



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

2011/2012

Tânia Vanessa Correia Marques

Diagnóstico da Tuberculose na criança em cuidados de  
saúde primários: Análise comparativa entre Interferon-  
gamma release assays e teste da tuberculina

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Tânia Vanessa Correia Marques

**Diagnóstico da Tuberculose na criança em cuidados de  
saúde primários: Análise comparativa entre Interferon-  
gamma release assays e teste da tuberculina**

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Medicina Geral e Familiar**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:**

**Dra. Maria João Martins Sena Esteves**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:**

**Revista Portuguesa de Pneumologia**

março, 2012

**FMUP**

## Projeto de Opção do 6º ano - DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Eu, Tânia Vanessa Correia Marques, abaixo assinado, nº mecanográfico 030801183, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

**Nome:** Tânia Vanessa Correia Marques

**Endereço eletrónico:** taniavcm@med.up.pt **Telemóvel:** 913121702 e 938839942

**Número do Bilhete de Identidade:** 12782407

**Título da ~~Dissertação~~/Monografia** (cortar o que não interessa):

Diagnóstico da Tuberculose na criança em cuidados de saúde primários: Análise comparativa entre Interferon-gamma release assays e teste da tuberculina

**Orientador:**

Dr.ª. Maria João Martins Sena Esteves

**Ano de conclusão:** 2012

**Designação da área do projeto:**

Medicina Geral e Familiar

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

*A todos aqueles que estiveram presentes e demonstraram todo o seu apoio durante esta jornada.*

*Ao meu avô Rafael que apesar de já não se encontrar entre nós, permanecerá sempre no meu pensamento. Sei que me irás acompanhar onde quer que o futuro me leve.*

**Diagnóstico da Tuberculose na criança em cuidados de saúde primários: Análise comparativa entre Interferon-gamma release assays e teste da tuberculina**

**Diagnosis of tuberculosis in children in primary health care: Comparative analysis of interferon-gamma release assays and tuberculin skin test**

Autor: Tânia Vanessa Correia Marques

Correio eletrónico institucional: taniavcm@med.up.pt

Departamento de Clínica Geral da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Presidente: Prof. Doutor Alberto Pinto Hespanhol, Professor associado convidado da FMUP.

Morada- Alameda Prof. Hernâni Monteiro - 4200-319 Porto

Telefone - 22-0426600

Correio eletrónico - dcg@med.up.pt

## **Diagnóstico da Tuberculose na criança em cuidados de saúde primários: Análise comparativa entre Interferon-gamma release assays e teste da tuberculina**

### **RESUMO**

**Introdução:** A criança constitui um dos principais grupos de risco na infeção pelo *M. Tuberculosis* e de progressão para a Tuberculose. Pelas dificuldades diagnósticas nesta população e a controvérsia envolvendo o papel dos *Interferon-gamma release assays*, é objetivo desta monografia rever as publicações comparando o desempenho destes métodos com o do teste da tuberculina, averiguando a sua utilidade diagnóstica.

**Material e métodos:** Realizou-se uma pesquisa bibliográfica na *Pubmed* de artigos publicados na última década, em português e inglês e referentes a crianças até aos 18 anos, com as palavras-chave: *tuberculosis, mantoux, tuberculin test, interferon gamma release assay, IGRA, child, pediatric*. Foram obtidos 70 artigos e após seleção, foram incluídas 35 publicações. Adicionalmente recolheu-se informação dos *sites* da *World Health Organization*, *Direção Geral de Saúde*, *Stop TB Partnership* e Ministério da Saúde.

**Resultados:** Apesar da variabilidade de resultados, estes métodos não demonstram um desempenho inferior ao teste da tuberculina, apresentando maior especificidade em crianças vacinadas com *Bacillus Calmette-Guérin*. Apresentam uma associação positiva com a exposição ao bacilo e parecem revelar um valor preditivo positivo superior ao teste da tuberculina. Demonstram risco de resultados indeterminados em imunodeprimidos e crianças muito jovens.

**Discussão:** A heterogeneidade dos estudos e a inexistência de um *gold-standard*, resultam em limitações na sua interpretação, permanecendo várias incertezas relativamente à utilidade dos *Interferon-gamma release assays*.



**Conclusão:** Dada a carência de conclusões robustas, a utilização destes métodos pelo clínico deverá ser cautelosa. Destaca-se a necessidade de reforço da investigação, com protocolos estandardizados e *follow-ups* alargados.

**Palavras-chave:** tuberculose, teste da tuberculina, *interferon gamma release assay*, IGRA, criança, pediatria.

## **Diagnosis of tuberculosis in children in primary health care: Comparative analysis of interferon-gamma release assays and tuberculin skin test**

### **ABSTRACT**

**Introduction:** Being a child is a risk factor for infection by *M. Tuberculosis* and progression to Tuberculosis. Because of the diagnostic difficulties in this population and the controversy surrounding the role of Interferon-gamma release assays, the purpose of this monograph is to review the publications comparing the performance of these tests with the tuberculin test.

**Material and methods:** A literature search was performed in PubMed for articles published in the last decade, in Portuguese and English, relating to children up to 18 years, through the keywords: tuberculosis, Mantoux test, tuberculin test, interferon gamma release assay, IGRA, child, pediatric. 70 articles were obtained and after selection, 35 publications were included. Further information was collected from the sites of World Health Organization, *Direção Geral da Saúde*, Stop TB Partnership and *Ministério da Saúde*.

**Results:** Despite the variability in results, these tests do not show an inferior performance compared to the tuberculin test. Apparently show higher specificity in children vaccinated with *Bacillus Calmette-Guerin*; show a positive association with exposure and seem to reveal higher positive predictive value when compared to the tuberculin test. Immunocompromised patients and young children have a risk of indeterminate results.

**Discussion:** The heterogeneity of the studies and the lack of a gold standard, results in limitations in its interpretation. Many uncertainties remain regarding the usefulness of these tests.

**Conclusion:** Given the lack of robust conclusions, the use of these tests by clinicians should be cautious. The study emphasizes the need for more research, with standardized protocols and extended follow-ups.

**Key words:** tuberculosis, mantoux, tuberculin test, interferon gamma release assay, IGRA, child, pediatric.

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	2
LISTA DE QUADROS.....	4
INTRODUÇÃO .....	5
MATERIAL E MÉTODOS .....	14
RESULTADOS .....	16
1. Desempenho dos testes no diagnóstico da infeção pelo <i>M. Tuberculosis</i> em crianças imunocompetentes .....	16
a) Com história de contacto com doentes com Tuberculose ativa .....	16
b) Em crianças com Tuberculose ativa .....	24
2) Desempenho dos testes no diagnóstico da infeção pelo <i>M. Tuberculosis</i> em crianças imunodeprimidas .....	29
DISCUSSÃO .....	32
CONCLUSÕES .....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
APÊNDICES .....	I
ANEXOS .....	XLV

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCG - *Bacillus Calmette-Guérin*

CFP-10 - *Culture filtrate protein-10*

ELISA - *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*

ELISpot - *Ex vivo enzyme-linked immunospot*

ESAT-6 – *Early secreted antigenic target – 6*

EUA - Estados Unidos da América

FDA - *Food and Drug Administration*

IFN- $\gamma$  - Interferão gama

IGRA – *Interferon-gamma release assay*

IP-10 - *IFN- $\gamma$  inducible protein 10*

LTBI – *Latent tuberculosis infection*

MDR - Tuberculose multirresistente

MCP-2 - *Monocyte chemoattractant protein*

MIG - *Monocyte inducible protein*

*M. tuberculosis* - *Mycobacterium tuberculosis*

OR – *Odds ratio*

PCR - *Polymerase chain reaction*

PPD - *Purified protein derivative*

QFT - QuantiFERON<sup>®</sup>-TB

QFT-G - QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold

QFT-GIT - QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold-In Tube

RMN - Ressonância magnética nuclear

SFC - *IFN- $\gamma$  spot-forming cells*

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC – Sistema Nervoso Central

TB – Tuberculose

TBA – Tuberculose ativa

TC - Tomografia computadorizada

TSA - Testes de sensibilidade aos antimicrobianos

TST - Teste de sensibilidade à tuberculina

VIH - Vírus da imunodeficiência humana

WHO – *World Health Organization*

XDR – Tuberculose extensivamente resistente

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1. Diferenças e semelhanças entre os métodos T-SPOT<sup>®</sup>.TB e QuantiFERON<sup>®</sup>.

Quadro 2. Resumo dos artigos selecionados.

Quadro 3. Procedimento de administração dos testes nos artigos originais.

Quadro 4. Comparação entre TST e IGRA.

Quadro 5. Prioridades de pesquisa em relação aos IGRA pela OMS.

## INTRODUÇÃO

As crianças constituem um nicho muito particular dos doentes acompanhados ao nível dos Cuidados de Saúde Primários.

Dentro das especificidades inerentes a este grupo encontram-se a incapacidade das crianças mais novas para a verbalização de queixas, na obtenção de colaboração no exame físico, no decurso da realização de um meio complementar de diagnóstico ou de outros procedimentos. Já no capítulo da patologia, deveremos ter sempre presente que as manifestações clínicas poderão ser menos características já que se tratam de indivíduos cujo sistema imunitário se encontra em pleno desenvolvimento <sup>1</sup>. Como tal, o processo diagnóstico e o seguimento deste grupo etário constitui um verdadeiro desafio para todos os profissionais de saúde e, em particular, para o médico especialista de Medicina Geral e Familiar, já que este constitui a primeira linha na avaliação e orientação destes doentes.

A criança pertence ainda a um importante grupo de risco para a infeção pelo bacilo de Koch e, consequentemente, para o desenvolvimento da Tuberculose (TB).

Apesar das várias iniciativas, trabalhos de investigação e do enorme avanço ao nível do diagnóstico e do tratamento desta infeção, a Tuberculose permanece ainda hoje um grave problema de saúde pública, não se restringindo apenas aos países em vias de desenvolvimento, mas afetando igualmente os países mais desenvolvidos.

As condições sanitárias e socioeconómicas dos países em desenvolvimento facilitam e predispõem à sua disseminação e, nos países desenvolvidos, o ressurgimento da doença coincide com os grandes fluxos migratórios e com o Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) <sup>2</sup>. Em ambos os contextos teremos que considerar ainda os obstáculos decorrentes do desenvolvimento da Tuberculose multirresistente <sup>2</sup>.



Estima-se que em cada ano surjam mais de nove milhões de novos casos de Tuberculose e a esta doença são atribuídas aproximadamente dois milhões de mortes <sup>3</sup>. Atualmente, cerca de um terço da população mundial se encontra infetada, constituindo desta forma um reservatório (Infecção Tuberculosa latente / *Latent tuberculosis infection* (LTBI)) para a doença, que a qualquer momento poderá tornar-se ativa e transmissível <sup>3</sup>. Calcula-se que durante os dois primeiros anos após a infeção, 5% dos casos irão progredir para a doença ativa <sup>4</sup>. Doentes imunodeprimidos, tais como os infetados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), têm maior risco (5-15% ao ano) para o desenvolvimento de doença ativa após a infeção <sup>5</sup>. Já um estado de imunocompetência poderá manter os bacilos quiescentes por várias décadas, ocorrendo o desenvolvimento de doença ativa em 5 a 10% dos indivíduos infetados <sup>4</sup>. Como tal, a redução do reservatório humano tornou-se uma das prioridades no combate à Tuberculose, cuja concretização se prevê bastante morosa e complexa <sup>3</sup>.

O relatório da *World Health Organization* (WHO) para o ano de 2010, publicado em 2011, relatou uma incidência de 8.8 milhões de casos de Tuberculose, 1.1 milhões de mortes por doença ativa em indivíduos não infetados pelo VIH e 0.35 milhões de mortes por Tuberculose associada ao VIH <sup>6</sup>. De ressaltar que o número absoluto de casos tem vindo a diminuir desde 2006 e as taxas de incidência têm vindo a decrescer desde 2002 <sup>6</sup>. Um dos objetivos propostos pela iniciativa *Stop TB Partnership* refere-se à diminuição da taxa de mortalidade e os dados atualmente disponíveis (decrécimo de um terço desde 1990) têm demonstrado uma evolução favorável reforçando o potencial para atingir a meta estabelecida de 50% das taxas registadas em 1990 no ano 2015 <sup>6</sup>.

A avaliação definitiva do panorama da Tuberculose em Portugal no ano de 2010 (efetuada a 1 de agosto de 2011) relata-nos uma descida da incidência para os 22.9 novos casos por 100 000 habitantes, menos 8.5% que em 2009, confirmando assim uma tendência para uma descida consistente de 6.3% ao ano nos últimos dez anos <sup>7</sup>. Infelizmente Portugal

ainda não foi capaz de alcançar a categoria de país de baixa incidência já que ainda não se atingiu uma prevalência inferior aos 20 por 100 000 habitantes <sup>8</sup>. É importante assinalar ainda a tendência de decréscimo que se tem vindo a verificar nos distritos de maior incidência nos últimos dez anos <sup>8</sup>.

Já os dados de 2009 referem uma prevalência de Tuberculose em Portugal de 32.0 (11.0-56.0) por 100 000 habitantes, uma taxa de deteção de casos para todas as formas de Tuberculose de 86 % (74-96) e foram registadas 1,50 por 100 000 habitantes de mortes por Tuberculose em doentes não infetados pelo VIH <sup>9</sup>. Em 2008 a taxa de tratamento eficaz em casos identificados por observação direta foi de 87% <sup>9</sup>.

Cerca de 15% do peso desta doença corresponde ao grupo formado pelas crianças, ocorrendo 75% dos casos nos países com alta prevalência de Tuberculose <sup>1</sup>. A Tuberculose constitui ainda uma das principais causas de mortalidade global nesta faixa etária, sendo responsável por mais de 450 000 mortes por ano <sup>10</sup>. Estudos em países com elevadas taxas de infeção pelo VIH revelam uma tendência crescente de crianças VIH positivas padecendo de Tuberculose, observando-se ainda uma maior taxa de mortalidade nesta população <sup>11</sup>. Alguns ensaios realizados em África identificam a Tuberculose como uma causa *major* de morbimortalidade nas crianças infetadas pelo VIH <sup>12</sup>.

Um caso de tuberculose nesta faixa etária é considerado um evento sentinela, refletindo infeção recente de alguma fonte comunitária já que raramente constituem fontes primárias de infeção devido à sua natureza paucibacilar (baixa densidade de micobactérias) <sup>2, 5</sup>. A exposição das crianças mais jovens à Tuberculose ocorre frequentemente no lar, através de cuidadores bacilíferos, e o risco da exposição fora deste, aumenta com a idade <sup>1, 2</sup>. O seu sistema imunitário imaturo contribui ainda para um aumento do risco de progressão para a doença ativa após uma exposição <sup>1, 10</sup>. Estima-se que até 40% das crianças infetadas com idades inferiores aos dois anos irão desenvolver a doença, ocorrendo um segundo pico na

adolescência tardia <sup>10, 11</sup>. Como tal, a omissão da identificação de crianças infetadas (principalmente das mais jovens) de forma a que se proceda à instituição de terapêutica preventiva leva a um aumento desproporcionado do risco de progressão precoce para a doença, ao desenvolvimento de formas graves, extrapulmonares e disseminadas de Tuberculose e de reativação na idade adulta, constatando-se portanto um enorme benefício no tratamento da infeção na população pediátrica <sup>1, 11</sup>.

No grupo específico das crianças infetadas com o VIH, verifica-se um aumento do risco até 24 vezes para o desenvolvimento de doença ativa comparativamente às crianças VIH negativas <sup>1</sup>. Ocorre ainda um risco aumentado para o desenvolvimento de formas graves e disseminadas <sup>12</sup>. O VIH veio dificultar o diagnóstico definitivo, condicionando sinais clínicos e radiológicos não específicos <sup>12</sup>. Verifica-se ainda uma enorme dificuldade na obtenção da confirmação cultural, uma variabilidade na interpretação das radiografias pulmonares e uma frequente anergia ao teste de sensibilidade à tuberculina (TST) <sup>12</sup>.

Deveremos ter sempre presente que uma criança imunodeprimida irá necessitar de uma terapêutica antituberculosa mais prolongada e terá um risco aumentado de reações adversas consequentes das potenciais interações medicamentosas com os fármacos administrados para o tratamento da sua doença de base <sup>2</sup>. Verifica-se ainda um elevado risco de transmissão da Tuberculose para outros doentes imunodeprimidos que frequentem os mesmos serviços de saúde <sup>2</sup>.

De salientar que uma grande percentagem de casos de Tuberculose nesta faixa etária se deve a doença não cavitária paucibacilar, uma correta colheita de expectoração se tornar problemática (resultante, entre outros, de tosse ineficaz), uma grande proporção dos casos se tratar de doença extrapulmonar (necessitando de métodos invasivos para a recolha de produto biológico para exame), menos de 20% dos casos serem positivos ao exame direto e a confirmação bacteriológica ser apenas obtida em 30 a 40% dos casos (baixa sensibilidade na

doença paucibacilar) <sup>1, 4, 11, 12</sup>. Devido a estas limitações, tanto o diagnóstico de doença ativa como o de Tuberculose latente na criança terá sempre que se apoiar num conjunto de critérios, pretendendo-se que em conjunto possibilitem a diminuição do erro diagnóstico, tais como dados epidemiológicos, a história de exposição, as manifestações clínicas, o exame direto, o exame cultural (*gold standard* no diagnóstico de Tuberculose ativa), o estudo imagiológico (Radiografia, Tomografia computadorizada (TC), Ressonância magnética nuclear (RMN) ou ecografia consoante o envolvimento), as técnicas de *Polymerase chain reaction* (PCR) e ainda o TST <sup>1, 5, 12, 13</sup>. Apesar de o exame cultural ser considerado o *gold standard* no diagnóstico de doença ativa, permitindo ainda a realização dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), a maioria dos países que registam uma alta prevalência não possui os meios necessários para a sua realização <sup>12</sup>. O TSA constitui ainda um importante componente na decisão terapêutica dados os relatos de um aumento dos casos de Tuberculose multirresistente (MDR) e extensivamente resistente (XDR) <sup>12</sup>.

A ausência de instrumentos diagnósticos precisos potencia tanto o sub como o sobre diagnóstico desta infeção na população pediátrica, principalmente em áreas de grande prevalência de VIH e Tuberculose <sup>11, 13</sup>. Como tal, torna-se premente o desenvolvimento de métodos diagnósticos alternativos que demonstrem um bom perfil de sensibilidade e especificidade e uma ótima relação custo-benefício.

Atualmente o método mais utilizado no diagnóstico da infeção pelo bacilo de Koch na criança é o teste de sensibilidade à tuberculina ou Prova de Mantoux. Esta prova consiste num método *in vivo*, através de uma injeção intradérmica contendo *purified protein derivative* (PPD) e uma mistura de mais de 200 proteínas derivadas do *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) que irão estimular uma resposta de hipersensibilidade tipo IV <sup>2, 4</sup>. A sua interpretação consiste em determinar o diâmetro da induração, expresso em milímetros (mm), entre as 48 e as 72 horas após a administração <sup>4, 5</sup>. Porém, este método não está isento de

limitações sendo de salientar o seu perfil de sensibilidade e especificidade já que apresenta uma percentagem significativa de verdadeiros e falsos positivos <sup>4</sup>. Como tal, um resultado negativo não permite excluir doença ou infeção <sup>4</sup>. Dentro das causas mais frequentemente associadas a um resultado falso negativo surgem os casos de malnutrição grave, casos graves de Tuberculose, a infeção pelo VIH, determinações realizadas após administração de vacinas ou durante e após uma infeção vírica aguda <sup>5, 12</sup>.

Por outro lado, perante um resultado positivo teremos sempre que considerar uma potencial reação cruzada resultante da administração da vacina *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) ou a hipótese de estarmos perante uma infeção por micobactérias não tuberculosas <sup>4, 11</sup>. É de destacar ainda que este método não é capaz de distinguir uma infeção (recente ou passada) de doença ativa <sup>2, 4</sup>.

Esta técnica demonstra algumas vantagens já que se trata de um método relativamente pouco dispendioso e sem necessidade de componente laboratorial <sup>10</sup>. Como limitações biológicas ao TST encontram-se a idade, os estados de imunossupressão, o decréscimo natural da imunidade, condicionando um estado de anergia, e a ocorrência de *booster* (a repetição do TST pode levar a uma reação anamnética, com recrutamento de hipersensibilidade pré-existente) <sup>2, 4, 12</sup>. O procedimento está ainda dependente do operador podendo decorrer daí um incorreto manuseio e consequentemente uma interpretação inadequada e da necessidade de comparecimento ao serviço de saúde em dois momentos isolados (podendo daí advir uma má adesão ao método diagnóstico) <sup>2, 4, 11</sup>. Deste modo, este teste deverá sempre ser interpretado tendo em conta o contexto epidemiológico e a idade da criança <sup>5</sup>.

Alguns estudos de coorte demonstraram ainda que um TST positivo possui valor preditivo positivo no desenvolvimento subsequente de tuberculose num paciente pediátrico, sendo menor em populações com baixa incidência de Tuberculose <sup>2, 12</sup>.

No caso particular da criança, o TST poderá ser negativo em 40% dos imunocompetentes com um diagnóstico cultural positivo para a doença <sup>4</sup>. Teremos ainda que considerar que a positividade do teste é mais frequentemente obtida em casos de Tuberculose pulmonar ou extrapulmonar do que nos de Tuberculose miliar ou do Sistema Nervoso Central (SNC) <sup>4</sup>. Como tal, o TST poderá ser negativo até 40% dos casos de Tuberculose miliar ou meningite tuberculosa <sup>5</sup>. De referir ainda que quanto mais precocemente efetuado numa criança imunodeprimida, menor o risco de um resultado falso-negativo por anergia associada à sua doença de base <sup>2</sup>.

Os testes *Interferon-gamma release assay* (IGRA) foram desenvolvidos como uma alternativa imunodiagnóstica ao TST na deteção da infeção pelo *M. Tuberculosis* e têm como base a resposta imune desencadeada pela exposição aos antígenos *early secreted antigenic target – 6* (ESAT-6) e *culture filtrate protein-10* (CFP-10), codificados por um segmento genómico, ausente em todas as estirpes da vacina BCG e da maioria das restantes micobactérias ambientais <sup>4, 5, 11, 13</sup>. Foi demonstrado em ensaios humanos *in vitro* que a ESAT-6 estimula a libertação de interferão gama (IFN- $\gamma$ ) pelas células mononucleares do sangue periférico, podendo vir a constituir um marcador específico da infeção pelo *M. tuberculosis* <sup>4</sup>.

Atualmente encontram-se disponíveis 2 testes IGRA aprovados exclusivamente para o diagnóstico de infeção pelo *M. Tuberculosis* em crianças e adultos: o QuantiFERON<sup>®</sup>-TB (QFT) e o T-SPOT<sup>®</sup>.TB assay <sup>4</sup>.

O QuantiFERON<sup>®</sup>-TB (QFT<sup>®</sup>) trata-se de um método *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) que ao fim de 24 horas quantifica a produção de IFN- $\gamma$  após a incubação de uma amostra de sangue previamente diluída com o antígeno PPD <sup>1, 4</sup>. O QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold (QFT<sup>®</sup>-G) veio acrescentar ao procedimento os antígenos ESAT-6 e CFP-10 <sup>1, 4</sup>. Mais tarde surgiu o QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold-In Tube (QFT<sup>®</sup>-GIT) que veio

incluir ainda a exposição ao peptídeo TB 7.7, permitindo um aumento da sensibilidade sem interferência na especificidade do método <sup>4, 10</sup>. O QuantiFERON<sup>®</sup>-TB (QFT<sup>®</sup>) foi o primeiro IGRA aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) (em 2001) para o diagnóstico da infecção pelo *M. tuberculosis* <sup>4</sup>. Em 2005 e 2007 foram aprovados respectivamente o QFT<sup>®</sup>-G e o QFT<sup>®</sup>-GIT <sup>4</sup>.

O T-SPOT<sup>®</sup>.TB assay foi aprovado em 2008 pela FDA e trata-se de um método *ex vivo* *enzyme-linked immunospot* (ELISpot) que determina o número de células mononucleares produtoras de IFN- $\gamma$  através da separação das células T da amostra de sangue por centrifugação <sup>1, 4</sup>. A amostra é então incubada juntamente com os antígenos ESAT-6 e CFP-10, contendo cada poço anticorpos anti-IFN- $\gamma$  <sup>4</sup>. Perante um caso de infecção, as células T irão proceder à secreção de IFN- $\gamma$  que irá ser capturada pelos anticorpos contidos nos poços <sup>4</sup>. Estes são detetados através de outro anticorpo que se encontra acoplado a uma enzima capaz de catalisar uma reação colorimétrica, permitindo então a sua interpretação <sup>4</sup>. O teste é considerado positivo caso o resultado seja superior a 6 *spots* e negativo se inferior a 5 *spots* <sup>4</sup>.

As principais diferenças e semelhanças dos dois métodos IGRA encontram-se resumidas no Quadro 1 <sup>14</sup>.

Recentemente foram ainda realizados alguns estudos no sentido de avaliar o comportamento dos IGRA no diagnóstico da Tuberculose ativa e através de outros produtos biológicos tais como o líquido cefalorraquidiano (LCR), efusão pleural e lavado broncoalveolar <sup>15</sup>.

As prioridades para a investigação da Tuberculose pediátrica definidas pela WHO focam a necessidade de desenvolvimento de métodos mais eficazes para o diagnóstico clínico <sup>12</sup>. É ainda urgente a definição de novos algoritmos diagnósticos, ou proceder à atualização e aperfeiçoamento dos existentes, principalmente no caso particular das crianças infetadas pelo VIH <sup>12</sup>.

Atualmente constata-se um aumento da utilização e até da recomendação para a aplicação dos testes comerciais IGRA no diagnóstico da infecção pela Tuberculose, principalmente em países mais ricos e com uma baixa incidência de Tuberculose ativa <sup>1</sup>. O seu valor em populações com incidência intermédia ou elevada é menos claro e está dependente não só das características dos testes como da sua disponibilidade para o fornecimento de tratamento preventivo, da capacidade do seu sistema de saúde, da existência de infraestruturas e de equipamento laboratorial adequado <sup>1</sup>.

Dada a atual necessidade de um método que possibilite uma identificação mais precisa das crianças infetadas pelo *M. Tuberculosis* e pela persistência da controvérsia acerca do papel dos IGRA <sup>12</sup>, é objetivo desta monografia proceder à revisão das publicações que se referem à aplicação e comparação entre os métodos IGRA e o teste de sensibilidade à tuberculina na população pediátrica.



## MATERIAL E MÉTODOS

Procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica através da *Pubmed* em novembro de 2011. Como palavras-chave foram consideradas: *tuberculosis, mantoux, tuberculin test, interferon gamma release assay, IGRA, child, pediatric*. Foram definidos como limites todos os artigos publicados nos últimos 10 anos nas línguas portuguesa e inglesa, referentes a humanos e a indivíduos dos zero aos dezoito anos de idade.

Foram obtidos 70 artigos.

Inicialmente realizou-se uma análise exaustiva dos títulos e *abstracts*. Posteriormente procedeu-se à leitura na íntegra dos artigos sempre que surgiram dúvidas quanto à adequação dos mesmos ao objetivo da presente revisão. Foram então selecionados os artigos que se referiam à comparação do desempenho do teste de sensibilidade à tuberculina com o dos métodos IGRA no diagnóstico da tuberculose em crianças. Foram ainda incluídos artigos de revisão relativos aos IGRA e excluíram-se todas as publicações que não se relacionavam com o tema definido.

Foram selecionados 50 artigos.

Obtiveram-se 45 artigos completos, 39 a partir de links existentes na *Pubmed* (através da *proxy* da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto) ou após pesquisa no *Google* e 6 artigos através de contacto via *email* com os autores. Foram excluídos todos os artigos cujo texto integral não foi possível obter, assim como comentários, *letters* e recomendações. Foi ainda excluído um estudo que incluía adultos e crianças que não procedeu à discriminação dos resultados referentes à faixa etária pediátrica.

Foram recolhidas 35 publicações para figurarem nesta monografia, distribuindo-se da seguinte forma: 8 artigos de revisão, 4 meta-análises e 23 estudos de investigação original (14 estudos de coorte prospetivos, 4 estudos de coorte retrospectivos, 2 estudos casos-controlos, 2 estudos transversais e 1 relato de casos).

A pesquisa foi complementada com documentos obtidos através da consulta dos seguintes *sites*: *World Health Organization* (WHO - [www.who.int/en/](http://www.who.int/en/)), Direção Geral de Saúde (DGS - [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)), *Stop TB Partnership* ([www.stoptb.org/](http://www.stoptb.org/)) e Ministério da Saúde (<http://www.min-saude.pt/>).

## RESULTADOS

O primeiro desafio nesta área de investigação passa pela ausência de um *gold-standard* no diagnóstico da LTBI que nos permita uma otimização da análise do desempenho dos IGRA face ao TST, nomeadamente a determinação dos perfis de sensibilidade e especificidade dos testes <sup>1, 4, 11</sup>.

Uma primeira análise dos ensaios, alerta-nos imediatamente para uma grande heterogeneidade nas suas características (da grande variabilidade entre os coortes abordados, das epidemiologias locais, das técnicas de aplicação/avaliação dos métodos e da análise estatística realizada), dificultando à partida uma correta interpretação, valorização e uniformização dos seus achados <sup>1</sup>, dificuldades igualmente relatadas por Menzies e colaboradores na sua meta-análise <sup>16</sup>. Para a consulta dos resumos dos artigos seleccionados, consultar o Quadro 2.

Outra reconhecida limitação passa pelos distintos padrões de referência adotados nos vários ensaios, tais como, a avaliação dos testes em crianças com relatos de contacto com indivíduos bacilíferos, através do estabelecimento de gradientes/categorias de exposição (duração e proximidade), a comparação dos IGRA com o TST diretamente em crianças diagnosticadas com TB ativa ou ainda a sua aplicação em amostras saudáveis, com baixo risco de infeção e residentes em localizações com baixa prevalência de TB, de forma a poder estabelecer uma estimativa da especificidade <sup>1, 4, 11, 14</sup>.

- 1. Desempenho dos testes no diagnóstico da infeção pelo *M. Tuberculosis* em crianças imunocompetentes;**
  - a) Com história de contacto com doentes com Tuberculose ativa.**

A análise dos estudos incluídos nesta monografia revelou um número superior de resultados TST positivos face aos IGRA, tanto em meios de alta <sup>17, 18</sup> como de baixa prevalência de TB <sup>16, 19, 20</sup> ou mesmo quando esta não é especificada <sup>4, 21</sup>.

Alguns autores colocaram a hipótese de que a menor taxa de resultados QFT<sup>®</sup> positivos possam ser sugestivos de uma maior especificidade por parte do QFT<sup>®</sup> <sup>10, 17, 19, 20</sup>. Outros ponderam que estes resultados poderão sugerir uma maior sensibilidade por parte do TST, porém, o facto de o aumento da concordância juntamente com o aumento do *cut-off* ser obtido através da redução da discordância TST positivo/QFT<sup>®</sup> negativo, vem apoiar igualmente a hipótese de maior especificidade do QFT<sup>®</sup> <sup>17, 20</sup>.

No ensaio de Anderson e colegas (2006), o QFT<sup>®</sup> revelou uma maior taxa de positividade face ao TST (apenas crianças não vacinadas revelaram um TST positivo) face a uma estirpe pouco comum e muito agressiva de *M. Tuberculosis*, tendo os autores atribuído este resultado a diferenças na imunogenicidade da estirpe em causa que impediram o reconhecimento pelo TST (*Heaf test*), sugerindo uma maior sensibilidade do QFT<sup>®</sup> e a possibilidade de o TST proceder a uma subestimação da infeção por estirpes menos comuns <sup>22</sup>.

Já o estudo de Petrucci et al (2008) revelou uma maior percentagem de resultados TST positivos em crianças nepalesas e uma maior percentagem de QFT<sup>®</sup>-GIT positivos em crianças brasileiras apesar da grande similaridade das amostras (98.2 e 74.4% de vacinação com a BCG) <sup>23</sup>. Face aos achados, os autores consideram uma relação com maior grau as baciloscopias dos casos índice nepaleses (maior grau de infecciosidade) e uma procura mais tardia de auxílio médico, proporcionando um período de exposição superior <sup>23</sup>.

Ewer e colegas, num meio de baixa incidência, obtiveram 100% dos testes T-SPOT<sup>®</sup>.TB positivos e 90% de TST positivos, tendo os autores concluído que o T-SPOT<sup>®</sup>.TB

foi mais preciso na identificação da LTBI <sup>16</sup>. Outros ensaios relatam uma conclusão semelhante <sup>4, 11, 12, 13</sup>.

O artigo de revisão de Sztajn bok et al (2009) incluiu ensaios onde é reportada uma maior sensibilidade do ELISpot face ao TST <sup>2</sup>. Os autores consideram que o facto de este se correlacionar melhor com diferentes padrões de exposição à TB se comparado com o TST, poder-se-á inferir uma maior sensibilidade do IGRA. Relativamente à performance do QFT<sup>®</sup>, apesar da controvérsia, os autores sugerem que os dados mais recentes apontam para uma menor sensibilidade se comparado com o TST <sup>2</sup>.

Face resultados obtidos, alguns autores consideraram que o T-SPOT<sup>®</sup>.TB poderá representar um teste mais objetivo na deteção da LTBI em comparação com o TST em cenários de alta prevalência de TB e de vacinação com a BCG <sup>4</sup>.

Verificou-se ainda que a probabilidade de um IGRA (QFT<sup>®</sup>/T-SPOT<sup>®</sup>.TB) positivo se associa a um aumento da induração do TST <sup>4, 19, 20</sup>.

Apesar da grande variabilidade entre os ensaios e das discrepâncias verificadas, uma grande parte dos artigos conclui que os IGRA demonstram uma performance considerável e potencialmente superior ao TST.

### **Análise da concordância entre o TST e os IGRA**

A avaliação da concordância TST/IGRA, evidencia uma enorme variabilidade entre os estudos analisados, facto igualmente constatado por artigos de revisão e meta-análises <sup>4, 10, 12, 16, 24</sup>.

Relativamente aos meios com registo de alta prevalência de TB, Tsiouris e colegas elaboraram um estudo (2006) que revelou uma concordância moderada, se considerado um *cut-off*  $\geq 10$  mm, verificando-se adicionalmente uma tendência crescente com o aumento do

*cut-off* do TST que, como supracitado, poderá ser sugestivo de uma maior especificidade do QFT®<sup>17</sup>.

Okada e colaboradores (2008) verificaram uma concordância forte, porém admitiram uma potencial interferência nos resultados obtidos dadas limitações na avaliação da proporção de crianças vacinadas com a BCG<sup>18</sup>.

Já Gallant e colaboradores (2009) demonstraram uma fraca correlação (coeficiente de correlação = 0.17-0.22), denotando uma baixa redundância entre estes testes, sugerindo que ambos os testes têm um valor complementar entre si, avaliando diferentes aspectos da imunidade<sup>25</sup>.

Estudos decorridos em meios de baixa prevalência depararam-se com uma concordância baixa ou moderada, interpretada pelos seus autores como uma provável superioridade da especificidade demonstrada pelo QFT®<sup>19, 20</sup>.

Aplicando o T-SPOT®.TB, Cruz e colegas (2010) obtiveram num grupo de alto risco, uma concordância elevada e, nas crianças de risco intermédio, uma concordância bastante superior nas crianças sem BCG face às vacinadas<sup>26</sup>. Os autores concluíram que o T-SPOT®.TB é comparável ao TST no diagnóstico da LTBI e identificação de crianças de maior risco mas revela maior especificidade nas crianças vacinadas com a BCG<sup>26</sup>.

Estudos realizados em meios de baixa prevalência, apontam para uma boa correlação entre ambos os IGRA e uma concordância menor entre estes e o TST<sup>27, 28</sup>. As concordâncias são igualmente menores nas vacinadas com a BCG se comparadas com as não vacinadas<sup>4, 12, 27</sup>. Estes dados levam a que autores considerem que os IGRA poderão ter utilidade na decisão terapêutica, destringendo de forma mais eficaz as crianças com maiores necessidades de tratamento preventivo<sup>28</sup>. Em meios de alta prevalência verifica-se uma maior variabilidade nas avaliações de concordância entre o TST e ambos os IGRA, mantendo-se a superioridade da concordância entre os IGRA do que entre estes e o TST<sup>4, 12, 29, 30, 31</sup>.

Uma apreciação dos achados remete-nos para uma especificidade aparentemente superior dos IGRA, principalmente em crianças vacinadas com a BCG e residentes em países de baixa prevalência de TB <sup>4, 10</sup>.

### **Pesquisa de associações entre os IGRA e a BCG**

A BCG tem sido identificada como potencial elemento confundidor no TST já que se verifica uma maior associação de um resultado positivo/menor concordância entre os testes em crianças imunizadas face às não imunizadas <sup>4, 21, 26, 27</sup>.

No que se refere ao papel dos antecedentes vacinais com a BCG na interpretação de um resultado após a aplicação de um IGRA, a maioria dos estudos que abordou essa questão não identificou qualquer interferência, mesmo em crianças mais jovens sugerindo que os IGRA são independentes do estado vacinal da criança (ao invés do TST) <sup>4, 11, 14, 16, 18, 19, 20, 24, 26, 31</sup>. Esta característica pode traduzir-se numa maior especificidade dos IGRA, auxiliando o clínico no processo de avaliação de potenciais falsos-positivos consequentes da BCG aquando da interpretação de um TST <sup>11, 20</sup>. O mesmo princípio poder-se-á aplicar em casos de suspeitas de infeções por micobactérias não tuberculosas <sup>11</sup>. Esta capacidade de diferenciação apresentada pelos IGRA aparenta uma grande vantagem, já que poderá permitir uma instituição de quimioprofilaxia dirigida às crianças de maior risco <sup>11</sup>.

O artigo de revisão de Zar et al inclui múltiplos ensaios apontando a BCG com um confundidor dos resultados do TST <sup>12</sup>, enquanto outros estudos não verificaram qualquer associação entre a BCG e um resultado TST ou IGRA positivo <sup>4, 12, 28, 30</sup>.

## **Pesquisa de associações entre os IGRA e a exposição**

Vários foram os estudos que apuraram uma associação crescente entre a probabilidade de um resultado IGRA positivo e os antecedentes/ graus crescentes de exposição ao doente bacilífero <sup>2, 5, 11, 14, 16, 24, 26, 32</sup>, tanto em meios de alta <sup>18, 31</sup>, como de baixa prevalência de TB <sup>19</sup>.

Connel et al (2008) constataram que a história de exposição influenciou de uma forma significativa tanto a magnitude das indurações do TST como das respostas do IFN- $\gamma$  <sup>29</sup> e Corral e colaboradores (2009) acrescentam que quanto menor o intervalo de tempo desde a exposição à aplicação dos testes, maiores são a produção de IFN- $\gamma$  e as indurações do TST obtidas <sup>32</sup>.

Outros não conseguiram estabelecer uma relação clara entre um resultado IGRA (QFT<sup>®</sup>) positivo com a duração/ proximidade <sup>22</sup> ou exposição recente/passada aos contactos <sup>17</sup>.

Alguns artigos de revisão demonstraram associações positivas entre a exposição e os IGRA mas observaram estudos cujos resultados se revelaram ambíguos quanto à influência da exposição e o grau com o TST <sup>4, 11</sup>. Existem ainda relatos onde não se constatou tal associação com o TST <sup>26</sup>.

Verifica-se desta forma que uma criança com contacto com TB tem uma maior probabilidade de obter tanto um TST como um IGRA positivo <sup>14, 24, 29</sup>. Vários estudos consideram ainda uma associação superior entre a exposição e seus gradientes e os IGRA comparativamente ao TST, embora nunca possamos esquecer a grande variabilidade entre os estudos e a existência de um potencial enviesamento dos achados <sup>1, 2</sup>. Estes achados podem ser a favor da hipótese de que os IGRA poderão ser mais sensíveis que o TST no diagnóstico da LTBI em crianças, especialmente com relatos de exposição recente <sup>2, 12</sup>.



## Pesquisa de associações entre os IGRA e a idade

Dada a hipótese de os IGRA demonstrarem uma performance inferior em crianças, a análise dos ensaios comparativos apontam para um aumento da probabilidade de um IGRA positivo com o aumento com a idade em meios de alta prevalência <sup>17, 31</sup>, prevalência intermédia (*odds ratio* (OR) de produção de IFN- $\gamma$  em resposta ao IGRA de 1.0 dos zero aos 4 anos e de 1.89 entre os 5 e os 14 anos) <sup>32</sup>, sendo a mesma conclusão encontrada em artigos de revisão <sup>24</sup>. Porém, estes dados também nos alertam para o risco de resultados indeterminados por parte destes testes nas crianças mais jovens <sup>10, 24</sup>.

Connel e colegas (2008) chegaram à conclusão que a proporção de resultados indeterminados tanto no QFT<sup>®</sup>-G como no T-SPOT<sup>®</sup>.TB foi maior nas crianças menores de 3 anos <sup>29</sup>.

O artigo de revisão de Mori (2009) cita ensaios em que, apesar de se verificar uma correlação positiva significativa entre a resposta do IFN- $\gamma$  com o aumento da idade, também se evidencia um maior número de resultados indeterminados/menor resposta aos mitogénios nas crianças mais jovens (em menores de 2 anos, num dos estudos) <sup>24</sup>.

Bergamini e colegas (2009) avaliaram o QFT<sup>®</sup>-G, QFT<sup>®</sup>-GIT e o T-SPOT<sup>®</sup>.TB num meio de baixa prevalência, demonstrando que ambos os QFT<sup>®</sup> demonstravam uma taxa significativamente superior de resultados indeterminados se comparados ao T-SPOT<sup>®</sup>.TB, sendo estes mais frequentes em crianças menores de 4 anos <sup>27</sup>.

Kampmann e colegas (2009) admitem que apesar de uma boa amostragem, não foi possível determinar a performance dos QFT<sup>®</sup>-GIT e T-SPOT<sup>®</sup>.TB em todos os grupos etários; no entanto não detetaram quaisquer diferenças nas idades das crianças que obtiveram um resultado indeterminado <sup>28</sup>.

Por sua vez, Cruz e colegas (2011) não verificaram associação entre os resultados do T-SPOT<sup>®</sup>.TB e a idade <sup>26</sup>.

### **Avaliação da criança imigrante**

Alguns autores verificaram uma maior probabilidade de obter um IGRA e um TST positivo em crianças imigrantes provenientes de países com incidências superiores de TB <sup>19</sup>, <sup>26</sup>, <sup>27</sup>. Bergamini e colaboradores relatam ainda uma menor concordância entre o IGRA e o TST nestas crianças se comparadas com as restantes <sup>27</sup>.

### **Avaliação do potencial valor preditivo positivo dos IGRA**

O ensaio de Bakir et al (2008) realizou o *follow-up* de crianças que tinham demonstrado resultados TST e T-SPOT<sup>®</sup>.TB positivos, tendo sido calculado um risco de progressão para TBA de 3 a 4 vezes superior ( $p=0.04$ ) nos T-SPOT<sup>®</sup>.TB positivos face aos que tinham revelado um T-SPOT<sup>®</sup>.TB negativo e um risco de 2.7 vezes superior ao das crianças que tinham revelado um TST negativo <sup>21</sup>. Os autores concluíram que o IGRA poderá evidenciar um valor preditivo positivo para o desenvolvimento de TBA em contactos recentes <sup>21</sup>. Dada a similaridade entre as taxas de incidência nos contactos com um TST positivo, admitem que o IGRA poderá permitir uma identificação mais precisa das crianças com maior risco, possibilitando uma terapêutica preventiva mais orientada <sup>21</sup>.

### **b) Em crianças com Tuberculose ativa**

A avaliação da *performance* dos IGRA comparativamente à apresentada pelo TST através de doentes com TBA como referência para a LTBI, permite, quando o diagnóstico é realizado através do exame cultural (*gold-standard*) a determinação da sensibilidade e especificidade dos testes. Porém, na população pediátrica, a obtenção de uma cultura positiva é dificultada pelas características da doença nesta população <sup>1, 4, 11, 12</sup>. Deveremos ainda ter em mente que a TBA e a LTBI não se tratam de condições semelhantes, podendo daí resultar algumas limitações nos resultados destas investigações.

Tal como verificado nos estudos referentes à avaliação da *performance* dos testes em contactos com doentes com TBA, evidencia-se uma grande heterogeneidade entre os artigos incluídos <sup>1, 16</sup>, facto demonstrado pela grande variabilidade dos estudos considerados na meta-análise de Machingaidze et al (2011), no artigo de revisão de Soysal e colaboradores (2011) e no artigo de Zar e colegas (2010) <sup>4, 10, 12</sup>. Desta forma, os resultados apresentados deverão ser sempre interpretados de uma forma crítica <sup>1</sup>.

O estudo de Méndez-Echevarria et al (2011) revelou uma excelente sensibilidade e especificidade (98.3%; 99%) do QFT<sup>®</sup>-GIT e, quando comparado com um *cut-off* do TST  $\geq 10$  mm, este demonstrou uma maior especificidade nas crianças vacinadas com a BCG <sup>33</sup>.

Cruz e colaboradores (2010) verificaram uma sensibilidade superior do T-SPOT<sup>®</sup>.TB face ao TST em crianças com TBA diagnosticada por exame cultural <sup>26</sup>. Já no grupo diagnosticado clinicamente, o TST revelou-se superior ao IGRA <sup>26</sup>. A sensibilidade combinada revelou-se ligeiramente superior nas crianças com diagnóstico cultural <sup>26</sup>.

A meta-análise de Mandalakas et al (2011) revela que, em crianças com TB confirmada ou provável, se verificou uma ligeira superioridade da sensibilidade e especificidade dos IGRA face ao TST, principalmente do QFT<sup>®</sup> na TB definitiva <sup>1</sup>. Identificaram ainda uma

menor sensibilidade diagnóstica tanto por parte do TST como dos IGRA em idades inferiores aos 5 anos<sup>1</sup>.

Um estudo de Connell e colegas (2006) refere uma superioridade da sensibilidade do QFT® (100%) comparativamente ao TST (0%) a propósito de uma investigação de duas suspeitas de TB perinatal, tendo permitido uma instituição precoce da terapêutica<sup>11, 34</sup>.

Menzies e colegas (2007) concluíram que a sensibilidade de todos os testes se revelou sub-ótima, apesar de o ELISpot se ter revelado ligeiramente superior<sup>16</sup>. Já a especificidade revelou-se bastante elevada, justificada pelos autores com a sua independência face à BCG<sup>16</sup>. Constatou-se ainda uma sensibilidade inferior dos IGRA nas crianças quando comparadas aos adultos<sup>16</sup>.

Bianchi et al (2009) abordaram a performance do QFT®-GIT, tendo verificado uma ótima concordância entre o QFT®-GIT e o diagnóstico de TBA, sugerindo uma boa sensibilidade por parte do IGRA<sup>20</sup>. Já a concordância entre o TST e o IGRA revelou-se intermédia<sup>20</sup>.

Por outro lado, algumas publicações não verificaram um perfil de sensibilidade e especificidade significativamente superiores dos IGRA face ao TST tanto na TBA com diagnóstico cultural como clínico<sup>10, 15, 28, 35, 36</sup>. Connell et al (2006) obteve 100% de sensibilidade tanto no TST como no QFT® em doentes com TB ativa com diagnóstico clínico<sup>11</sup>.

Stavri e colegas (2010) demonstraram no seu ensaio que a sensibilidade do TST foi significativamente superior à do QFT® no grupo etário dos 1 aos 4 anos (92.3% vs 15.4%), mesmo nas vacinadas com a BCG, tendo obtido uma fraca concordância entre o TST e o IGRA<sup>37</sup>.

No ensaio de Detjen et al (2007), o TST demonstrou uma sensibilidade de 100% enquanto ambos os IGRA foram positivos em 93%, embora a diferença não tenha sido

estatisticamente significativa <sup>38</sup>. Porém, os IGRA revelaram uma especificidade consideravelmente superior (100% e 93% versus 58%) <sup>38</sup>.

Os estudos que procederam à comparação do desempenho entre ambos os IGRA, revelaram resultados divergentes, atribuindo uma sensibilidade superior tanto ao QFT<sup>®</sup>-GIT <sup>1</sup>, <sup>15, 28</sup>, como ao T-SPOT<sup>®</sup>.TB <sup>16</sup>.

A meta-análise de Machingaidze et al e um estudo de Nicol e colegas decorridos em meios de elevada prevalência de TB revelaram uma baixa sensibilidade dos IGRA se comparados com meios de baixa prevalência <sup>4, 10</sup>. O estudo de Nicol et al envolveu crianças jovens vacinadas com a BCG e apesar de o T-SPOT<sup>®</sup>.TB ter demonstrado uma menor sensibilidade, a especificidade foi idêntica à do TST <sup>4</sup>. Machingaidze et al consideraram que os seus achados poderiam estar relacionados com as altas taxas de exposição ao bacilo, a dinâmica de transmissão, o estado nutricional, a infeção pelo VIH, infeção por micobactérias não tuberculosas, helmínticas ou outras <sup>10</sup>. Outros estudos identificaram uma sensibilidade inferior tanto do TST como dos IGRA nos países em desenvolvimento, se comparados com os países desenvolvidos <sup>1, 12</sup>.

Por outro lado, vários estudos observaram um aumento da sensibilidade através da utilização complementar do TST com um IGRA, um achado potencialmente útil em casos particulares <sup>4, 12, 26, 28, 35, 36</sup>. Já outros verificaram que a associação resultava num aumento da especificidade no diagnóstico, não tendo sido detetada uma interferência significativa na sensibilidade <sup>38</sup>.

### **Pesquisa de associações entre os IGRA e a BCG**

Os achados resultantes da investigação do efeito da BCG no desempenho dos IGRA em doentes com TBA revelaram-se igualmente variados.

A análise estratificada de Mandalakas et al (2011) sugere uma menor sensibilidade do TST, QFT<sup>®</sup>-G, QFT<sup>®</sup>-GIT e T-SPOT<sup>®</sup>.TB quando a taxa de vacinação com a BCG é superior aos 50% <sup>1</sup>.

Stavri et al (2010) observaram que a sensibilidade do TST foi significativamente superior à do QFT<sup>®</sup> no grupo etário dos 1 aos 4 anos (92.3% *versus* 15.4%), mesmo nas vacinadas com a BCG <sup>37</sup>.

Já no estudo de Sun lin et al (2010), embora a sensibilidade fosse superior nas crianças vacinadas com a BCG, a especificidade foi semelhante nos dois grupos <sup>36</sup>.

Méndez-Echevarria et al (2011), Cruz AT e colegas (2010) e Menzies e colegas (2007) verificaram uma especificidade superior dos IGRA em crianças vacinadas com a BCG <sup>16, 26, 33</sup>.

### **Pesquisa de associações entre os IGRA e a exposição**

Foram encontrados alguns relatos mostrando algumas evidências de uma associação positiva entre os resultados obtidos após a aplicação de um IGRA e o gradiente de exposição <sup>4, 5, 38</sup>.

### **Ocorrência de resultados indeterminados dos IGRA**

Vários estudos reportam taxas significativas de resultados indeterminados resultantes da aplicação dos IGRA em crianças com TBA <sup>10, 12, 15, 33, 37</sup>. Esta potencialidade pode constituir uma limitação destes testes, interferindo na interpretação dos resultados e consequentemente com a conduta do clínico.

A meta-análise de Machingaidze et al (2011) e o artigo de Zar et al (2010) analisaram estudos relatando números significativos de resultados indeterminados pelos IGRA (principalmente pelo QFT<sup>®</sup>) quando aplicados a crianças mais jovens <sup>10, 12</sup>. Por outro lado, Stavri et al (2010) não verificou que a idade tivesse demonstrado diferenças estatisticamente significativas <sup>37</sup>.

Sester et al (2010) verificou na sua meta-análise que o T-SPOT<sup>®</sup>.TB acabou por revelar uma percentagem superior de resultados indeterminados se comparado ao QFT<sup>®</sup>-GIT <sup>15</sup>.

### **Avaliação do potencial valor preditivo positivo dos IGRA**

Os achados de Zar et al (2010) parecem apontar para uma capacidade preditiva de um resultado IGRA positivo na identificação de indivíduos em risco para o desenvolvimento de TBA, superior à demonstrada pelo TST <sup>12</sup>.

O estudo de Detjen e colaboradores (2007) permitiu uma estimativa do risco de TBA face a um resultado IGRA positivo numa criança com TBA conhecida, que se revelou 37 vezes superior ao de uma criança sem doença enquanto um TST positivo numa criança com TBA conhecida revelou um risco de apenas 2.4 vezes <sup>4,38</sup>.

## **2. Desempenho dos testes no diagnóstico da infecção pelo *M. Tuberculosis* em crianças imunodeprimidas**

Ainda se verifica uma quantidade escassa de ensaios que se debruçaram sobre a população particular das crianças imunodeprimidas.

Um estudo prospetivo de Bruzzese et al, incluído no artigo de revisão de Soysal e colegas (2011), desenvolvido com crianças imunodeprimidas (VIH negativas) com alto risco de infecção por TB num meio de baixa prevalência demonstrou uma positividade de 1.2% para o TST e o QFT<sup>®</sup>-GIT e de 9.4% para o T-SPOT<sup>®</sup>.TB ( $p=0.02$ ) <sup>4</sup>. Porém os IGRA demonstraram um maior número de resultados indeterminados (13.5% e 20%,  $p=0.3$ ) <sup>4</sup>. Soysal et al são da opinião que pelo facto de os IGRA demonstrarem uma maior taxa de resultados indeterminados nesta população, pouco acrescentam ao uso isolado do TST <sup>4</sup>.

Chapman et al reportaram uma pequena diminuição na resposta dos IGRA nos imunodeprimidos, porém 3 ensaios demonstraram que o T-SPOT<sup>®</sup>.TB apresentava maior taxa de resultados positivos se comparado ao TST <sup>2</sup>.

Menzies e colegas verificaram uma maior sensibilidade por parte do ELISpot nas amostras imunodeprimidas, comparando com o TST <sup>16</sup>.

O estudo de Haustein et al (2009), decorrido num meio com prevalência considerável (25%) de crianças imunodeprimidas, obteve uma associação positiva entre uma idade mais jovem e uma maior probabilidade de um resultado indeterminado com tendência decrescente com o aumento da idade, em crianças não imunodeprimidas. A imunossupressão revelou uma associação independente com uma maior probabilidade de um teste indeterminado. Os autores alertam para o risco de um QFT<sup>®</sup>-GIT não ser capaz de fornecer um resultado preciso nestas populações <sup>39</sup>.



### **Crianças com neoplasias malignas**

Stefan e colaboradores (2010) elaboraram um estudo comparando o TST com os IGRA numa população de crianças com variadas neoplasias antes do início da quimioterapia <sup>40</sup>. Foram obtidos resultados positivos em 20.6% das crianças; 8.8% TST e QFT<sup>®</sup>-GIT positivas e 17.6% T-SPOT<sup>®</sup>.TB positivas <sup>4, 40</sup>. Os resultados foram indeterminados em 11.8% no T-SPOT<sup>®</sup>.TB e em 14.7% no QFT<sup>®</sup>-GIT, sendo mais frequentes nos doentes com linfopenia ou neoplasias hematológicas embora sem significado estatístico <sup>4, 40</sup>. Nas crianças em que se identificou história de exposição à TB, os três testes foram negativos em 50% dos casos e o T-SPOT<sup>®</sup>.TB foi positivo em 25% <sup>40</sup>. Todos os testes foram negativos nas crianças previamente tratadas para a TB <sup>40</sup>. 80% dos testes QFT<sup>®</sup>-GIT indeterminados e 53.8% dos negativos correspondiam a crianças com linfopenia <sup>40</sup>.

A baixa concordância entre o TST e ambos os testes IGRA e a concordância moderada entre T-SPOT<sup>®</sup>.TB e o QFT<sup>®</sup>-GIT, revelaram uma superioridade do T-SPOT<sup>®</sup>.TB nesta população <sup>40</sup>.

### **Crianças sob terapêutica imunossupressora**

A revisão de Sztajn bok et al (2009) incluiu alguns estudos abordando este tipo de populações <sup>2</sup>. Ferrara et al que reportaram uma alta taxa (21.4%) de resultados IGRA indeterminados numa população com 20% de crianças que se encontravam a fazer terapêutica imunossupressora <sup>2</sup>. Ravn et al observaram o mesmo fenómeno com o QFT<sup>®</sup> numa população com crianças infetadas pelo VIH ou sob terapia imunossupressora <sup>2</sup>.

Dados os achados, os autores aconselham prudência na interpretação dos resultados dada a possibilidade de um estado de anergia nestes doentes <sup>2</sup>.

## Crianças infectadas com o VIH

A meta-análise de Mandalakas et al (2011) observou uma menor sensibilidade do TST e de todos os IGRA disponíveis em crianças infectadas com o VIH <sup>1</sup>.

O artigo de revisão de Soysal e colegas (2011) contemplou alguns ensaios neste tipo de população <sup>4</sup>. Um dos estudos incluídos, de Davies et al revelou uma maior percentagem de resultados T-SPOT<sup>®</sup>.TB em crianças VIH positivas com TB definitiva, provável ou com suspeita de TB face ao TST <sup>4</sup>. O IGRA demonstrou igualmente superioridade em comparação com o TST nesta população nos grupos de crianças menores de 2 anos, crianças com contagem CD4 <15% e em crianças com malnutrição moderada a severa <sup>4</sup>. Como tal, os autores concluíram que o T-SPOT<sup>®</sup>.TB demonstra uma melhor *performance*, com uma maior sensibilidade para a deteção de TB ativa em crianças infectadas com o VIH <sup>4</sup>. Um dos artigos incluídos na revisão de Lalvani e colegas demonstram igualmente uma sensibilidade superior do T-SPOT<sup>®</sup>.TB numa amostra contendo uma elevada prevalência de crianças infectadas com o VIH e malnutrição, mesmo em crianças menores de 3 anos, ao invés do TST <sup>4, 11, 14</sup>. A associação do TST ao IGRA resultou num aumento da sensibilidade <sup>2, 11</sup>.

Mandalakas e colegas determinaram a concordância entre o IGRA e o TST na deteção de LTBI em crianças VIH positivas num meio de alta prevalência de TB, tendo o TST sido positivo em 21.6%, o T-SPOT<sup>®</sup>-TB em 52.2% e o QFT<sup>®</sup>-G em 16.7% <sup>4</sup>. A concordância entre o TST e o T-SPOT<sup>®</sup>.TB foi fraca e moderada entre o TST e o QFT<sup>®</sup>-G, sugerindo uma maior sensibilidade do T-SPOT<sup>®</sup>.TB na população avaliada <sup>4</sup>.

A revisão de Sztajn bok et al (2009) incluiu ainda um relato de baixa prevalência de resultados positivos no QFT<sup>®</sup> em crianças infectadas com o VIH e uma maior frequência de resultados indeterminados se a contagem CD4+ <100 células/mm<sup>3</sup> <sup>2</sup>.

## DISCUSSÃO

Numerosos estudos utilizaram a TB ativa como referência para o estudo do seu desempenho no diagnóstico da LTBI, podendo gerar alguns equívocos quanto à aplicabilidade dos IGRA na TBA <sup>15, 16, 24</sup>. Atualmente estes testes não se encontram aprovados para o diagnóstico da TBA, dada a sua incapacidade de diferenciação entre a doença e a infecção, embora possam eventualmente servir de recurso na suspeita de TB ativa na criança de difícil diagnóstico <sup>1,2, 4, 5, 10, 11, 15, 16, 26, 28, 35, 40</sup>.

Como referido anteriormente, a análise dos estudos apresentados remete-nos de imediato para várias limitações, tais como a ausência de um *gold-standard* no diagnóstico da LTBI (utilizando como referência crianças com TBA ou com contactos conhecidos com doentes com TBA), a inexistência de uniformidade nos objetivos das investigações, dos desenhos de estudo (maioritariamente transversais), seleção e número de participantes, metodologias (na aplicação, testes utilizados e leitura dos mesmos – Consultar Quadro 3), duração dos *follow-ups*, a utilização de *cut-offs* distintos e diferentes realidades epidemiológicas, pontos que irão sempre ser alvo de limitações nos resultados obtidos, impedindo desta forma a obtenção de conclusões exatas <sup>1, 4, 10, 11, 15, 17, 20, 22, 26, 30, 34, 35, 39, 40</sup>.

Devemos ainda considerar a questão de que alguns ensaios foram instituídos pelos próprios criadores dos métodos podendo os resultados serem influenciados pelo melhor domínio das técnicas por parte destes investigadores ou pela possibilidade de conflitos de interesse <sup>11, 14, 15</sup>.

Cruz e colaboradores admitem ainda a possibilidade de enviesamento na seleção das amostras <sup>26</sup>. Alertam ainda para a avaliação de antecedentes de vacinação com a BCG através da presença de cicatriz (ao invés da consulta do processo clínico) visto que 5-15% dos imunizados não desenvolvem cicatriz, <sup>26</sup>. Como tal, admitem que estes dois fatores possam ser sede de viés no seu estudo <sup>26</sup>.

Vários ensaios empregaram a TBA (diagnóstico cultural ou clínico) como referência assumindo que a *performance* dos testes nestes doentes refletem as populações com LTBI <sup>1</sup>. Estas duas populações diferem a vários níveis, nomeadamente no estado imune do indivíduo e pela dificuldade de se obter um resultado cultural positivo (baixas taxas de diagnósticos culturais) <sup>1, 10, 21, 24</sup>.

Outros elementos a ter em conta na *performance* destes testes são a prematuridade do sistema imune de crianças muito jovens, as manifestações inespecíficas, a probabilidade da passagem do IFN- $\gamma$  através do aleitamento e a administração da BCG durante a infância <sup>10, 34</sup>.

Um pormenor igualmente apontado trata-se do facto de a colheita para aplicação do IGRA (flebotomia) ser frequentemente realizada após a aplicação do TST, podendo resultar num potencial efeito de *boosting* <sup>4, 26</sup>. Adicionalmente, a flebotomia constitui um procedimento mal tolerado, principalmente pela população pediátrica <sup>15</sup>.

Já Corral e colegas admitem questões éticas no seu estudo dadas as *guidelines* em vigor no seu país <sup>32</sup>.

No que se refere à exposição como referência, Mandalakas et al consideram ser uma medida importante no sentido da avaliação dos doentes com maior risco e necessidade de estudo <sup>1</sup>.

Porém, na maioria dos estudos relativos à exposição, não foi possível obter dados que permitam a estimativa da sensibilidade ou especificidade dos métodos, comparando desta forma a sua *performance* através de taxas de positividade nos testes e a concordância/discordância entre os resultados, investigando a associação entre os mesmos a diferentes graus de exposição e ainda a procura de associações entre os resultados e variáveis tais como a idade, a vacinação com a BCG, a proveniência das crianças (através da incidência de TB do seu país de origem) e estados de imunossupressão.

Dados os elementos anteriormente referidos, todos os resultados decorrentes destes ensaios terão que ser analisados com um espírito crítico.

A análise dos vários artigos revelou uma grande heterogeneidade de resultados. Mandalakas e colaboradores concluíram no seu artigo de revisão (2011) que tanto o TST como os IGRA são capazes de identificar crianças com LTBI <sup>1</sup>. Porém, não foi identificado um teste manifestamente superior <sup>1</sup>. Adetifa et al concluíram igualmente uma capacidade diagnóstica de LTBI em contactos similar entre o TST e os IGRA mas admitem vantagem na sua associação em situações de alto risco ou elevada suspeita clínica <sup>30</sup>.

Bamford et al admitem a incapacidade de ambos os testes para o diagnóstico da TBA mas referem que uma combinação dos testes aumenta a sensibilidade <sup>35</sup>. Por outro lado, Stavri e colegas admitem um aumento da especificidade na associação <sup>37</sup>.

Os IGRA parecem não ser influenciados pela vacinação prévia com BCG e menos influenciados pela infeção prévia por micobactérias não-tuberculosas, o que aumenta a sua sensibilidade e especificidade diagnósticas quando comparados ao TST <sup>2, 5, 35, 38</sup>.

Vários autores observaram uma percentagem mais significativa de resultados indeterminados na população pediátrica sendo alguns autores da opinião que os IGRA não fornecem grandes vantagens sobre o TST, principalmente em crianças mais jovens, imunodeprimidas ou com neoplasias malignas <sup>4, 15, 31, 35, 39, 40</sup>. Infelizmente ainda existe um número reduzido de ensaios nestas populações <sup>1, 4, 35</sup>.

Stefan et al sugerem ultrapassar os resultados indeterminados/negativos provocados pela baixa contagem de linfócitos (doentes imunodeprimidos) na realização do T-SPOT<sup>®</sup>.TB, procedendo ao aumento do volume de sangue colhido <sup>40</sup>. Porém, Bamford (2011) considera que os IGRA poderão evidenciar uma vantagem em imunodeprimidos, particularmente se secundários ao VIH <sup>35</sup>.

## CONCLUSÕES

Embora os testes *Interferon-gamma release assays* constituam uma novidade no diagnóstico da LTBI, é fundamental ter presente que ainda nos encontramos perante um trabalho em progresso no sentido de obter evidência científica mais robusta <sup>14</sup>. Apesar disso os ensaios atualmente disponíveis já nos permitiram identificar algumas vantagens e limitações destes métodos <sup>14</sup>. Como mais-valias encontram-se a ausência de necessidade de retorno para a leitura do teste (ao invés do TST), a possibilidade de obtenção de resultados em apenas 24h, a eliminação de erros de aplicação e/ou interpretação associados à leitura do TST, a necessidade de um volume muito pequeno de sangue (ideal para a faixa etária pediátrica) e a menor probabilidade de efeitos adversos já que não ocorre uma exposição do doente ao antigénio (Quadro 4) <sup>2, 16, 35</sup>.

Infelizmente os IGRA não são desprovidos de limitações já que não nos permitem uma diferenciação entre infeção e doença ativa, não se tratam de métodos isentos de resultados inválidos/indeterminados, resultantes tanto de um estado de imunossupressão como de erros técnicos (colheita, transporte, técnica e interpretação), a complexidade e custos associados às técnicas utilizadas (problemático nos países onde a infeção é endémica), a necessidade de realização de uma flebotomia para obtenção de uma amostra de sangue e ainda a exigência de várias precauções no sentido de manter a viabilidade dos linfócitos <sup>2, 4, 10, 12, 16</sup>. Não constituem ainda um método que permita a monitorização do tratamento antituberculoso <sup>14</sup>.

Atualmente as recomendações destes métodos são bastante heterogéneas. Algumas *guidelines* recomendam a substituição do TST pelo IGRA, outras permitem que se opte por um dos métodos (mas não ambos) enquanto outras (Canadá, Reino Unido, Itália, Alemanha, Suíça, Holanda, Coreia e Noruega) recomendam primariamente o TST, seguido do IGRA <sup>4</sup>. Este último método levanta a questão de um eventual efeito *boosting* da resposta do IGRA pela aplicação prévia do TST <sup>4</sup>. Adicionalmente, devemos considerar a problemática da

heterogeneidade nos critérios de interpretação destes testes, particularmente do T-SPOT<sup>®</sup>.TB<sup>4</sup>. Como tal, os critérios aprovados pela FDA nos Estados Unidos da América (EUA) diferem dos adotados por outros países nomeadamente na inclusão de uma categoria *borderline* (resultados iguais a 5, 6 ou 7 *spots*) que pretende eliminar falsos positivos e falsos negativos no ponto de corte e testar as conversões em situações de infeção recentemente adquirida<sup>4</sup>.

Relativamente às *guidelines* dirigidas à população pediátrica, o consenso do grupo de estudo europeu “TBNET”, citado no artigo de Soysal e colaboradores, recomenda a aplicação dos IGRA nos seguintes contextos<sup>4</sup>:

- Em crianças com alto risco de infeção (especialmente se <5 anos e imunocomprometidas), um IGRA poderá ser aplicado para além do TST com o objetivo de um aumento de sensibilidade. É considerada prova de infeção a obtenção de pelo menos um dos métodos positivo, recomendando-se tratamento preventivo<sup>4</sup>;
- Em crianças com baixo risco de LTBI (por exemplo um TST positivo aquando de um rastreio e sem identificação de fonte), um IGRA poderá ser utilizado de forma a obter-se uma confirmação, visando um aumento da especificidade diagnóstica e desta forma reduzindo o risco de um falso diagnóstico de LTBI<sup>4</sup>.

Soysal e colegas concluem na sua revisão bibliográfica que os IGRA parecem oferecer vantagens no diagnóstico da LTBI comparativamente ao TST mas reconhecem que na atualidade, a sua utilidade diagnóstica está dependente da incidência de TB e da população em estudo, tal como se verifica com o TST<sup>4</sup>. Pelo facto de não existir um *gold standard* no diagnóstico da LTBI, ainda não foi possível clarificar se os IGRA deverão ser utilizados isoladamente ou em associação com o TST<sup>4</sup>. Os autores relembram ainda o facto de que tanto um TST como um IGRA negativo não serem capazes de distinguir ou excluir a infeção pelo

*M. Tuberculosis*, a aplicação de um IGRA permanecer dispendiosa e com probabilidade de obtenção de resultados indeterminados/inválidos<sup>4</sup>.

Alguns autores ponderam que o futuro deva passar pelo desenvolvimento de novos métodos ou antígenos que permitam a distinção da LTBI e da TB ativa e pela descoberta dos mecanismos imunológicos e microbiológicos de latência do *M. Tuberculosis*<sup>4, 14</sup>. Algumas publicações destacam o desenvolvimento de potenciais bio marcadores para a TB, tais como o *IFN-γ inducible protein 10* (IP-10), *Monocyte chemoattractant protein* (MCP-2) e *Monocyte inducible protein* (MIG), que poderão vir a aumentar a sensibilidade destes testes<sup>12, 14, 23</sup>.

Magdorf e colaboradores são da opinião de que o futuro deverá passar pela prevenção e o desenvolvimento de novas vacinas<sup>5</sup>.

Diversos investigadores consideram que o *gold-standard* deste tipo de ensaios deveria passar pelos estudos prospetivos, longitudinais com o objetivo de determinar a incidência da TB ativa em casos com resultados positivos e negativos ao nível dos IGRA e TST e o seu risco de progressão (valor prognóstico) face a esses resultados<sup>2, 11, 14, 15, 16, 23, 28, 29, 37, 40</sup>. Idealmente dever-se-iam realizar ensaios independentes para a avaliação da reprodutibilidade dos IGRA, realização de ensaios repetidos utilizando as mesmas amostras, executadas pelo mesmo técnico e por técnicos distintos, no mesmo e em laboratórios diversos de forma a avaliar a variabilidade destes testes, assim como o efeito do tempo decorrido entre a colheita da amostra e o seu processamento, o tempo de incubação e as suas condições<sup>15</sup>.

Todos estes fatores poderiam ser conjugados de forma a criar um protocolo universal e otimizado, permitindo uma maior uniformização dos desenhos de estudo, possibilitando uma interpretação mais fidedigna dos achados e, conseqüentemente, a obtenção de conclusões mais robustas.

Alguns investigadores apontam a necessidade de intensificar a avaliação destes métodos em indivíduos VIH positivos e outros grupos imunodeprimidos (incluindo aqueles sob terapia



imunossupressora e com neoplasias), infetados com outras micobactérias não tuberculosas e outras infecções (helmínticas) e tentar perceber o significado dos resultados e das discordâncias entre os IGRA e o TST <sup>1, 10, 11, 15, 39</sup>.

Mandalakas e colaboradores (2011) relembram ainda que um teste mais preciso permitirá uma instituição de terapêutica mais racional e focalizada para os indivíduos, particularmente fundamental nas que apresentam maior vulnerabilidade (crianças jovens, imunodeprimidos) e as que se encontram em meios de alta prevalência de TB já que é reconhecido o benefício da terapêutica preventiva nesta população de risco <sup>1</sup>.

As prioridades de pesquisa em relação aos IGRA pela OMS citadas por Sztanjbok e colegas podem ser consultadas no Quadro 5 <sup>2</sup>.

Em suma, persiste ainda uma quantidade escassa de estudos e a necessidade de desenvolvimento de investigações perfeitamente estandardizadas, com maiores amostragens, um *follow-up* prolongado e incidindo nas várias variáveis já aqui abordadas <sup>2, 5, 11, 12, 15, 16, 17, 20, 23, 28, 29, 31, 35, 37, 38, 39, 40</sup>. Até lá, os clínicos devem continuar a guiar a sua prática através da clínica, recorrendo aos meios complementares de diagnóstico necessários, de acordo com as suas suspeitas <sup>2, 35, 40</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mandalakas, A M, Detjen, A K, Hesselning, A C, Benedetti, A, Menzies, D Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. INT J TUBERC LUNG DIS, 2011, e-publicação.
2. Sztajnbok, Flavio R; Boechat, Neio L; Sztajnbok, Denise C N; Ribeiro, Samantha Brum; Oliveira, Sheila K F; Sant'Anna, Clemax C. O desafio da tuberculose na faixa etária pediátrica frente a novas técnicas diagnósticas. JPediatr (RioJ), 2009, 85 (3): 183-193.
3. The global plan to stop TB 2011-2015. Stop TB partnership. Disponível através: [http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/TB\\_GlobalPlanToStopTB2011-2015.pdf](http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/TB_GlobalPlanToStopTB2011-2015.pdf) (acedido a 23 de dezembro de 2011).
4. Soysal, Ahmet e Bakir, Mustafa. T-SPOT.TB assay usage in adults and children. Expert Rev. Mol. Diagn, 2011, 11(6), 643-660.
5. Magdorf, Klaus; Detjen, Anne K. Proposed management of childhood tuberculosis in low-incidence countries. Eur J Pediatr, 2008, 167:927-938.
6. Global Tuberculosis Control 2011. World Health Organization. 2011. Disponível através: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2011/gtbr11\\_full.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2011/gtbr11_full.pdf) (acedido a 23 de dezembro de 2011).

7. Tuberculose em Portugal: avaliação definitiva do ano 2010 confirma a descida da incidência. Disponível através: [http://www.min-saude.pt/NR/rdonlyres/414D1224-F361-4F1C-95AC-FBB017CAF675/0/dgs\\_tuberculose.pdf](http://www.min-saude.pt/NR/rdonlyres/414D1224-F361-4F1C-95AC-FBB017CAF675/0/dgs_tuberculose.pdf) (acedido a 30 de dezembro de 2011).
8. Programa Nacional de Luta contra a Tuberculose - Ponto da Situação Epidemiológica e de desempenho. Relatório para o dia mundial da Tuberculose. 2010. Disponível através: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i012626.pdf> (acedido a 23 de dezembro de 2011).
9. Global Health Observatory Data Repository – TB indicators. World Health Organization. Disponível através: <http://apps.who.int/ghodata/?vid=500> (acedido a 23 de dezembro de 2011).
10. Machingaidze, Shingai; Wiysonge, Charles Shey; Gonzalez-Angulo, Yulieth; Hatherill, Mark; Moyo, Sizulu; Hanekom, Willen e Mahomed, Hassan. The Utility of an Interferon Gamma Release Assay for Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Disease in Children. The Pediatric Infectious Disease Journal, 2011, Volume 30, Número 8, 694-699.
11. Lalvani, Ajit e Millington, Kerry A. T cell-based diagnosis of childhood tuberculosis infection. Curr Opin Infect Dis, 2007, 20:264–271.
12. Zar, Heather J; Connel, Tom G e Nicol, Mark. Diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: new advances. Expert Rev. Anti Infect. Ther, 2010, 8(3), 277-288.

13. Lodha, Rakesh e Kabra, S K. Newer diagnostic modalities for tuberculosis. *Indian J of Pediatr*, 2004, 71(3): 221-227.
  
14. Lalvani, Ajit e Pareek, Manish. Interferon gamma release assays: principles and practice. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2009, 28(4):245-252.
  
15. Sester, M; Sotgiu G; Lange C; Giehl C; Girardi E; Migliori GB; Bossink A; Dheda K; Diel R; Rodriguez J; Lipman M; Nemeth J; Ravn O; Winkler S; Huitric E; Sandgren A; Manissero D. Interferon- $\gamma$  release assays for the diagnosis of active tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. 2010, European Respiratory Society.
  
16. Menzies, Dick; Pal, Madhukar; Comstock, George. Meta-analysis: New Tests for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: Areas of Uncertainty and Recommendations for Research. *Ann Intern Med*, 2007; 146:340-354.
  
17. Tsiouris, SJ; Austin, J; Toro, P; Coetzee, D; Weyer, K; Stein, Z; El-Sadr, WM. Results of a tuberculosis-specific IFN- $\gamma$  assays in children at high risk for tuberculosis infection. *INT J TUBERC LUNG DIS*, 2006, 10 (8): 939-941.
  
18. Okada, K; Mao, T E; Mori, T; Miura, T; Sugiyama, T; Yoshiyama, T; Mitarai, S; Onozaki, I; Harada, N; Saint, S; Kong, K S; Chhour, Y M. Performance of an interferon-gamma release assay for diagnosing latent tuberculosis in children. *EPIDEMIOL. INFECT.*, 2008, 136: 1179-1187.

19. Winje, Brita A; Oftung, Fredrik; Korsvold, Gro E, Mannsaker, Turid; Ly, Ingvild N; Harstad, Ingunn; Dyrhol-Riise, Anne M; Heldal, Einar School based screening for tuberculosis infection in Norway: comparison of positive tuberculin skin test with interferon-gamma release assay. MC INFECTIOUS DISEASES, 2008, 8: 140.
  
20. Bianchi, Leila; Galli, Luisa; Moriondo, Maria; Veneruso, Giuseppina; Becciolini, Laura; Azzari, Chiara; Chiappini, Elena; Martino, Maurizio. Interferon-gamma Release Assay Improves the Diagnosis of Tuberculosis in Children. PEDIATR INFECT DIS J, 2009, 28: 510-514.
  
21. Bakir, Mustafa; Millington, Kerry A; Soysal, Ahmet; Deeks, Jonathan J; Efee, Serpil; Aslan, Yasemin; Dosanjh, Davinder P S; Lalvani, Ajit. Prognostic Value of a T-Cell-Based, Interferon- $\gamma$  Biomarker in Children with Tuberculosis Contact. ANN INTERN MED, 2008, 149: 777-786.
  
22. Anderson, Suzanne T; Williams, Amanda J; Brown, Jillian R; Newton, Sandra M; Simsova, Marcela; Nicol, Mark P; Sebo, Peter; Levin, Michael; Wilkinson, Robert J; Wilkinson, Katalin A. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* Undetected by Tuberculin Skin Testing. AM J RESPIR CRIT CARE MED, 2006, 173: 1038-1042.
  
23. Petrucci, Roberta; Amer, Nabil A; Gurgel, Ricardo Q; Scherchand, Jeevan B; Doria, Luiza; Lama, Chamala; Ravn, Pernille; Ruhwald, Morten; Yassin, Mohammed; Harper, Gregory; Cuevas, Luis E. Interferon Gamma, Interferon-Gamma-Induced-Protein 10 and Tuberculin Responses of Children at High Risk of Tuberculosis Infection. PEDIATR INFECT DIS J, 2008, 27: 1073-1077.

24. Mori, Tori. Usefulness of interferon-gamma release assays for diagnosing TB infection and problems with these assays. *J INFECT CHEMOTHER*, 2009, 15: 143-155
  
25. Gallant, Caroline J; Cobat, Aurelie; Simkin, Leah; Black, Gillian F; Stanley, Kim; Hughes, Jane; Doherty, T M; Hanekom, Willem A; Eley, Brian; Beyers, Nulda; Jais, Jean-Philippe; Van Helden, Paul; Abel, Laurent; Alcais, Alexandre; Hoal, Eileen G; Schurr, Erwin. Tuberculin Skin Test and *In Vitro* Assays Provide Complementary Measures of Antimycobacterial Immunity in Children and Adolescents. *CHEST*, 2010, 137: 1071-1077.
  
26. Cruz, Andrea T; Geltemeyer, Abby M; Starke, Jeffrey R; Flores, Jaime A; Graviss, Edward A; Smith, Kim C. Comparing the Tuberculin Skin Test and T-SPOT.TB Blood Test in Children. *PEDIATRICS*, 2011, 127 (1): e31-e38.
  
27. Bergamini, Barbara M; Losi, Monica; Vaienti, Francesca; D'Amico, Roberto; Meccugni, Barbara; Meacci, Marisa; De Giovani, Donatella; Rumpianesi, Fabio; Fabbri, Leonardo M; Balli, Fiorella; Richeldi, Luca. Performance of Commercial Blood Tests for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Children and Adolescents. *PEDIATRICS*, 2009, 123: e419 – e424.
  
28. Kampmann, B; Whittaker, E; Williams, A; Walters, S; Gordon, A; Martine-Alier, N; Williams, B; Crook, A M; Hutton, A-M; Anderson, S T. Interferon- $\gamma$  release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *EUR RESPIR J*, 2009, 33: 1374 – 1382.

29. Connell, Tom G; Ritz, Nicole; Paxton Georgia A; Buttery Jim P; Curtis Nigel; Ranganathan Sarath C. A Tree-Way Comparison of Tuberculin Skin Testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB in Children. PLOS ONE, 2008, 3 (7): e2624
  
30. Adetifa, Ifedayo M; Ota, Martin O C; Jeffries, David J; Hammond, Abdulrahman; Lugos, Moses D; Donkor, Simon; Patrick, Owiafe; Adegbola, Richard; Hill, Philip C. Commercial Interferon Gamma Release Assays Compared to the Tuberculin Skin Test for Diagnosis of Latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in Childhood contacts in the Gambia. PEDIATR INFECT DIS J, 2010, 29 (5): 1-5.
  
31. Lucas, Michaela; Nicol, Pam; McKinnon, Elizabeth; Whidborne, Rebecca; Lucas, Andrew; Thambiran, Aesen; Burgner, David; Waring, Justin; French, Martyn. A prospective large-scale study of methods for the detection of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in refugee children. THORAX, 2010, 65: 442-448.
  
32. Corral, Helena del; París, Sara C; Marín, Nancy D; Marín, Diana M; López, Lucelly L; Henao, Hanna M; Martínez, Teresita; Villa, Liliana; Barrera, Luis F; Ortiz, Bianca L; Ramírez, Maria E; Montes, Carlos J; Oquendo, Maria C; Arango, Lisandra M; Riano, Felipe; Aguirre, Carlos; Bustamante, Alberto; Belisle, John T; Dobos, Karen; Mejía, Gloria L; Giraldo, Margarita R; Brennan, Patrick J; Robledo, Jaime; Arbeláez, Maria P; Rojas, Carlos A; García, Luis F. IFN $\gamma$  Response to *Mycobacterium tuberculosis*, Risk of Infection and Disease in Household Contacts of Tuberculosis Patients in Colombia. PLOS ONE, 2009, 4 (12), e8257.

33. Méndez-Echevarria, Ana; González-Munoz, Miguel; Mellado, Maria J; Baquero-Artigao, Fernando; Vecino, Raquel; Pérez, Elia. Optimizing interpretation of the tuberculin test using an interferon-gamma release assay as a reference standard. *PEDIATR INFECT DIS J*, 2011, 30 (5): 426 – 427.
34. Connell, T; Bar-Zeev, N; Curtis, N. Early Detection of Perinatal Tuberculosis Using a Whole Blood Interferon- $\gamma$  Release Assay. *CLINICAL INFECTIOUS DISEASES*, 2006, 42 (1): e82-e85.
35. Bamford, Alasdair R J; Crook, Angela M; Clark, Julia E; Nademi, Zohreh; Dixon, Garth; Paton, James Y; Riddell, Anna; Drobniewski, Francis; Riordan, Andrew; Anderson, Suzanne T; Williams, Amanda; Walters, Sam; Kampmann, Beate. Comparison of interferon- $\gamma$  release assays and tuberculin skin test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK: a paediatric TB network study. *ARCH DIS CHILD*, 2010, 95: 180-186.
36. Sun Lin, Yan Hui-min, Hu Ying-hui, Jiao Wei-wei, Gu Yi, Xiao J,ing Li Hui-min, Jiao An-xia, Guo Ya-jie, Shen A-dong. IFN-  $\gamma$  release assay: a diagnostic assistance tool of tuberculin skin test in pediatric tuberculosis in China. *CHIN MED J*, 2010, 123 (20): 2786-2791.
37. Stavri, Henriette R; Murgoci; Ulea, Irina; Popa, Loredana G; Popa, M I. Prospective Comparison of Two Brands of Tuberculin Skin Tests and Quantiferon-TB Gold in-tube Assay Performances for Tuberculosis Infection in Hospitalized Children. *Maedica*, 2010, 5 (8): 271-276.



38. Detjen, A K; Keil, T; Roll, S; Hauer, B; Mauch, H; Wahn, U; Magdorf, K. Interferon- $\gamma$  Release Assays Improve the Diagnosis of Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Disease in Children in a Country with a Low Incidence of Tuberculosis. CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, 2007, 45: 322-328.
39. Haustein, Thomas; Ridout, Deborah A; Hartley, John C; Thaker, Urvashi; Shingadia, Delane; Klein, Nigel J; Novelli, Vas; Dixon, Garth L J. The Likelihood of an Indeterminate Test Result from a Whole-Blood Interferon- $\gamma$  Release Assay for the Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Children Correlates With Age and Immune Status. PEDIATR INFECT DIS J, 2009. 28: 669-673.
40. Stefan, D C; Dippenaar, A; Detjen, A K; Schaaf, H S; Marais, B J; Kriel, B; Loebenberg, L; Walzl, G; Hesselning, A C. Interferon-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children with cancer. INT J TUBERC LUNG DIS, 2010, 14(6): 689-694.

## APÊNDICES

## QUADROS

Quadro 1. Diferenças e semelhanças dos métodos T-SPOT<sup>®</sup>.TB e QuantiFERON<sup>®</sup> (adaptado da referência 14)

	T-SPOT <sup>®</sup> .TB	QuantiFERON <sup>®</sup>
<b>Antígenos</b>	ESAT-6 e CFP-10	ESAT-6, CFP-10 e TB7.7
<b>Controlo interno positivo</b>	Sim	Sim
<b>Unidades de leitura</b>	<i>IFN- γ spot-forming cells (SFC)</i>	Unidades internacionais de IFN-γ
<b>Plataforma tecnológica</b>	ELISpot	ELISA
<b>Substrato do método</b>	Células mononucleares do sangue periférico.	Sangue total.
<b>Medida do resultado</b>	Número de células T produtoras de IFN-γ.	Concentração sérica de IFN-γ produzida pelas células T.
<b>Sistema de leitura</b>	Enumeração dos <i>spots</i> a olho nú, lupa ou por leitura automática.	Medição dos valores de densidade ótica através de um leitor automático.
<b>Procedimentos técnicos</b>	Separação, enumeração e distribuição das células mononucleares do sangue periférico nos poços. Incubação.	Incubação sem necessidade de procedimentos adicionais.

CFP-10 - Culture filtrate protein-10, ELISA - Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay, ELISpot - Ex vivo enzyme-linked immunospot, ESAT-6 – Early secreted antigenic target – 6, IFN-γ - Interferão gama, SFC - *IFN- γ spot-forming cells*.

## Quadro 2. Resumo dos artigos selecionados

Autor Ano Ref.	País Contexto	Participantes (dados relevantes)	% vacinação BCG	Testes	Resultados
Mandalakas et al, 2011  Ref.1	18 países	33 estudos	8-100	TST	<b>Meta-análise</b>  A precisão do TST e dos IGRA tanto na avaliação da LTBI como da TB ativa revelam-se semelhantes. Os autores consideram que tanto o TST como os IGRA demonstraram uma sensibilidade e especificidade abaixo do desejável relativamente à TB ativa, o que reforça a noção de que deverão ser utilizados como adjuntos no seu diagnóstico.  Os autores admitem a necessidade de mais estudos estandardizados.
	Incidências de TB muito distintas.  10 países com incidência de TB <i>smear positive</i> de >25/100 000.	<b>Idades:</b> 7.6 A (1.9-14.6)  <b>Imigrantes:</b> 33-97%  <b>VIH +:</b> 0.5-100%  3 estudos incluíram crianças <b>imunodeprimidas</b> <b>VIH negativas.</b>		T-SPOT®.TB QFT®-G QFT® - GIT	
Sztajnbok et al 2009  Ref.2		Artigo revisão		TST  T-SPOT®.TB QFT®	Apenas são referenciados os resultados explicitamente referentes a crianças.  Apesar importância basilar da história clínica e epidemiológica, os IGRA aparentam resultados promissores devendo ser considerados na investigação da TB, especialmente em grupos de risco (crianças e imunodeprimidos), havendo porém necessidade de mais estudos. TST e IGRA negativos numa população de imunodeprimidos não permitem a exclusão da LTBI ou TB ativa. A inexistência de dados fidedignos impede a avaliação da especificidade dos IGRA na TB ativa embora pareçam revelar uma especificidade superior ao TST na LTBI.
Soysal et al 2011  Ref.4		Artigo revisão		TST  T-SPOT®.TB	O T-SPOT®.TB não demonstra capacidade de diferenciar LTBI de TBA mas demonstra um desempenho superior ao do TST no diagnóstico da LTBI: maior especificidade nas crianças vacinadas com a BCG e potencialmente uma superioridade na sensibilidade. Referem ainda um desempenho superior em doentes de alto risco de progressão para TBA.

Magdorf et al 2008	Artigo revisão		A informação relativa às crianças ainda é escassa. Porém, os IGRA não revelam capacidade de diferenciar TBA de LTBI. Os seus achados revelam uma sensibilidade similar ao TST na TBA mas uma especificidade superior.
Ref. 5			Na LTBI, os IGRA correlacionam-se melhor com a exposição e que parecem revelar uma sensibilidade superior em populações de alto risco tais como as crianças jovens e crianças imunodeprimidas. Demonstram ainda uma maior especificidade que o TST na discriminação de infeções por micobactérias não tuberculosas.
Machingaidze et al 2011	Meta-análise	TST	Os autores concluem não se verificar evidência clara de que os IGRA devem substituir o TST no diagnóstico da LTBI na criança.
Ref.10	Revisão da literatura relatando o estudo da sensibilidade e especificidade do TST e do QFT em crianças imunocompetentes no diagnóstico da LTBI. Meta-análise acerca da sensibilidade dos IGRA na TB ativa.	QFT®-G QFT®-GIT	Os autores alertam que uma maior especificidade poderá também refletir uma menor sensibilidade, principalmente em crianças com exposição menos recente.
Lalvani et al 2007	Artigo de revisão	TST	Os estudos incluídos sugeriram maior sensibilidade do ELISpot na avaliação das crianças jovens com suspeita de TB mas admitem a quantidade escassa de estudos avaliando o ELISA. Ao invés do TST, não são afetados pela BCG.
Ref. 11		QFT® T-SPOT®.TB	Pequena quantidade de estudos avaliando a especificidade. A produção de IFN-γ não é afetada pela idade exceto nas primeiras semanas de vida, potencialmente explicado por uma maior sensibilidade do T-SPOT.TB ou pelas taxas de resultados indeterminados mais comuns com os métodos ELISA.
Zar et al 2010	Artigo revisão	TST	Após a sua pesquisa, concluíram que a informação disponível acerca desta temática ainda é escassa e resultante de diferentes desenhos de estudo, não permitindo uma boa comparação de resultados.
Ref.12		T-SPOT®.TB QFT®	Os autores consideram que nos países desenvolvidos, uma discordância TST+/ IGRA – possa representar um dilema na distinção entre um TST falso positivo ou um IGRA falsamente positivo.
Lodha et al 2004	Artigo revisão		Os autores consideram que o QFT® é comparável ao TST no diagnóstico da LTBI, menos afetado pela BCG e é capaz de diferenciar as infeções por micobactérias não tuberculosas.
Ref. 13		QFT®	Ao invés do TST, não é dependente da variabilidade e subjetividade associadas à administração e leitura do TST.

<b>Lalvani et al 2009</b>	<b>Artigo revisão</b>			<b>TST</b>	Apenas são referenciados os resultados explicitamente referentes a crianças Os estudos considerados demonstraram que os IGRA se correlacionam com a exposição tão bem ou melhor que o TST. A concordância entre os testes é variável mas, verifica-se uma concordância inferior nas populações vacinadas com a BCG, dada a ausência de interferência desta com os IGRA. O método ELISA aparenta uma menor sensibilidade face ao ELISpot no diagnóstico da LTBI.
<b>Ref. 14</b>				<b>ELISpot ELISA</b>	
<b>Sester et al 2010</b>	50% dos estudos no Reino Unido	4 estudos sobre crianças – mediana de 204,5 casos.  > 50% dos estudos reportaram casos <b>VHI +</b> .	<b>74.2</b>	<b>TST</b>	<b>Meta-análise</b> avaliando a evidência da aplicação de ambos os IGRA no diagnóstico de TB ativa (apenas incluídos os estudos referentes a crianças).  Tanto as características do TST avaliadas como as conclusões do ensaio não foram diferenciadas das dos adultos nesta meta-análise, exceto no não aconselhamento do uso isolado dos IGRA.
<b>Ref. 15</b>		25% dos estudos reportaram <b>imunodeprimidos</b> .		<b>T-SPOT®.TB QFT®-GIT</b>	
<b>Menzies et al 2007</b>	<b>Meta-análise</b>			<b>TST</b>	Apenas apresentados resultados explicitamente referentes a crianças. Os IGRA aparentam ter uma menor sensibilidade se comparados aos adultos. Especificidade ligeiramente superior nas crianças pré-púberes vacinadas com a BCG. Necessidade de estudos longitudinais que avaliem o valor preditivo dos IGRA.
<b>Ref.16</b>	Estudo de ambos os IGRA no diagnóstico da infeção latente em indivíduos saudáveis e imunodeprimidos através de contactos ou doentes com TBA.			<b>T-SPOT.TB® QFT®</b>	
<b>Tsiouris et al 2006</b>	<b>África do Sul</b> Alta prevalência.	<b>184</b>	<b>72.3</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: ≥10. Avaliaram-se ainda ≥5 e a 15 mm.	Verifica-se uma maior concordância entre os testes com o aumento dos seus cut-offs. A menor percentagem de QFT-GIT positivos poderá significar uma maior especificidade ou uma maior sensibilidade do TST. 0% de resultados indeterminados no QFT-GIT.
<b>Ref. 17</b>	Exposição domiciliária.	<b>Idade média: 9 A</b> (5 - 15 A)		<b>QFT®-GIT</b>	
<b>Okada et al 2008</b>	<b>Camboja</b> Alta prevalência.	<b>217</b>	<b>88</b>	<b>TST - 2.5 UI de PPD-S</b> <i>Cut-off</i> +: ≥10.	Concordância considerável entre os dois testes. A % de testes positivos em ambos aumentou com o grau de baciloscopia do caso índice e a BCG não foi considerada fator de confundimento. Apesar de resultados comparáveis, o QFT-G poderá ser útil na deteção de LTBI, principalmente na suspeita de falsos positivos provocados pela BCG (88% com BCG) ou suspeita de infeção por micobactérias não tuberculosas.
<b>Ref. 18</b>	Contactos durante pelo menos um mês.	<b>Idade: &lt;5 anos</b>		<b>QFT®-G</b>	

<b>Winje et al 2008</b>	<b>Noruega</b>	<b>511</b>	<b>46.2</b>	<b>TST</b>	QFT aparenta melhor especificidade no diagnóstico da LTBI (9% vs 100% positividade). Discrepâncias foram verificadas em todos os <i>cut-offs</i> . Um QFT positivo foi associado a uma maior indução, nascimento em países de maior prevalência e com exposição conhecida. Os resultados do TST podem ter sido alvo de confundimento pela vacinação com a BCG ou outras infeções não tuberculosas.
	Baixa prevalência.	<b>Imigrantes:</b> 1ª G: 132 2ªG: 111		<b>QFT®-G</b>	
<b>Ref. 19</b>	Aplicação do QFT a crianças com um TST positivo.	<b>Idades:</b> 14-15 A			
<b>Bianchi et al 2009</b>	<b>Itália</b>	<b>336</b>	<b>51.5</b>	<b>TST</b>	O QFT-GIT demonstrou uma boa sensibilidade no diagnóstico de TBA e poderá demonstrar uma melhor especificidade que o TST apesar de nenhum dos métodos demonstrar capacidade discriminatória entre LTBI e TBA.
<b>Ref. 20</b>	Baixa prevalência.	<b>Idade:</b> 4.5 (2.6-6.8) A		<b>QFT® - GIT</b>	
	Estudo prospetivo de crianças em risco.	<b>Imigrantes:</b> 86%			
<b>Bakir et al 2008</b>	<b>Turquia</b>	<b>908</b>	<b>80</b>	<b>TST</b>	Apesar de um resultado similar, o T-SPOT.TB parece demonstrar um potencial valor preditivo no desenvolvimento subsequente de TB ativa em contactos recentes, podendo identificar com maior precisão os indivíduos com maior necessidade de terapia preventiva.
<b>Ref. 21</b>	Avaliação do valor preditivo do T-SPOT.TB na exposição doméstica.	<b>Idade média:</b> 7.5 A (1M-16A)  <b>Duração média do estudo:</b> 1.3 anos.		<b>T-SPOT®.TB</b>	
<b>Anderson et al 2006</b>	<b>Reino Unido</b>	TST: 120 IGRA: 75	<b>79</b>	<b>TST – Heaf test</b>	O IGRA apresentou uma maior positividade (22%) relativamente ao TST (Heaf test) (2.7%) numa exposição a um caso grave de TBA por estirpe incomum de <i>M. Tuberculosis</i> (NPH4216), aparentando o IGRA uma maior sensibilidade.
<b>Ref. 22</b>	Não especifica taxa de prevalência.	<b>Idade média:</b> 16.4A		<b>IGRA (ESAT-6, CFP-10, PPD)</b>	
<b>Petrucci et al 2008</b>	<b>Brazil e Nepal</b>	<b>259:</b> 146 nepaleses; 113 brasileiros.	Nepal: 93.8% Brasil: 100%	<b>TST</b>	A comparação da performance do QFT-GIT, TST e do IP-10 em crianças (idade média: 8.5A) recentemente expostas a adultos com microscopia positiva para o <i>M. Tuberculosis</i> sugerem que a maior frequência de resultados TST positivos no Nepal (93% BCG) pode ser explicada pelo maior grau encontrado nas baciloscopias comparativamente aos brasileiros (100% BCG). Apenas 10% de resultados discordantes entre o TST e o IGRA poder-se-ão dever a uma alta taxa de transmissão em ambos os meios.
<b>Ref. 23</b>	Crianças expostas recentemente a adultos com baciloscopia positiva.	<b>Idades:</b> Nepal: 8.5 A Brasil: 8.4 A		<b>QFT®-GIT</b>	

<b>Mori T 2009</b>	<b>Artigo de revisão</b>			<b>TST</b>  <b>QFT®</b>	Este artigo engloba indivíduos de várias idades, sendo apenas relatados nesta monografia os achados explicitamente referentes à faixa pediátrica e apenas foram considerados os estudos não obtidos na minha pesquisa bibliográfica.  Conclusões não individualizadas.
<b>Ref. 24</b>					
<b>Gallant et al 2010</b>	<b>África do Sul</b> Alta prevalência.	<b>475</b>  <b>Idade média:</b> 13.9 A	Não determinado. Área de elevada aplicação da BCG.	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: estudo de todo o espectro.  <b>IGRA whole blood</b> (antígenos DPP e ESAT-6)	Ambos os testes poderão ter uma função complementar (em crianças imunocompetentes residentes num meio de alta prevalência de TB; idade média 13.9A) já que se tratam de testes com baixa redundância, determinando diferentes aspetos da imunidade antimicrobacteriana, variável entre indivíduos ou com o grau de exposição.
<b>Ref. 25</b>	Estudo de crianças saudáveis.				
<b>Cruz et al 2011</b>	<b>EUA</b>  Estudo prospetivo em crianças (1-18 anos) com diferentes fatores de risco.	<b>210</b>  <b>Idade média:</b> 8.6 A (1 – 18)	<b>37.6</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: ≥5, ≥10, ≥15 – conforme riscos.  <b>T-SPOT®.TB</b>	O T-SPOT.TB foi comparável ao TST no diagnóstico de TB ativa e na identificação das crianças com maior risco de infeção mas aparenta maior especificidade nas crianças vacinadas com a BCG.  O T-SPOT TB revela associação ao grau de exposição e não parece ser influenciada pela idade, apresentando uma maior especificidade em crianças vacinadas com a BCG.
<b>Ref. 26</b>					
<b>Bergamini et al 2009</b>	<b>Itália</b> Baixa prevalência	<b>496</b>  <b>Idades:</b> 11.1 A (0-19 A)	<b>41.1</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: ≥5, ≥10 – conforme riscos.  <b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT® – G</b> <b>QFT®-GIT</b>	Concordância baixa entre o TST e os IGRA em vacinados e não vacinados (mais evidente nos QFT).  O T-SPOT.TB demonstrou uma menor taxa de resultados indeterminados face ao QFT, principalmente nas menores de 4 anos.
<b>Ref. 27</b>	Avaliação do impacto da idade nos IGRA em crianças de risco.	<b>Imigrantes:</b> 38.9%			
<b>Kampmann et al 2009</b>	<b>Reino Unido</b> Baixa prevalência	<b>209</b>  <b>Idades:</b> TB: 9.2 A (6M-15A) LTBI: 6.9 A (3M-16A)	Total: 68 TB: 60.4 LTBI: 74.0	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: ≥6, ≥15 – conforme riscos.  <b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT® - GIT</b>	Os autores reforçam que os IGRA não devem ser utilizados no diagnóstico da TB ativa pela possibilidade de falsos negativos devido ao um sistema imune imaturo nas crianças jovens.  A maior sensibilidade do QFT-GIT poder-se-á dever à inclusão de um 3º antígeno face ao T-SPOT.TB.  Na suspeita de LTBI, sugerem que uma associação entre o TST e um IGRA possa contribuir para um aumento da sensibilidade diagnóstica aquando de suspeitas de falsos-positivos no TST, evitando tratamentos profiláticos desnecessários.
<b>Ref. 28</b>	Crianças expostas a indivíduos com TB ativa, com suspeita de LTBI ou de TB ativa.	<b>Imigrantes:</b> 62%			
<b>Connell et al 2008</b>	<b>Austrália</b> Contacto com TB recente ou imigração recente de país com alta prevalência de TB.	<b>100</b>  <b>Idades:</b> LTBI: 10.2 A TB ativa: 8.2 A Não infetados: 8. A	Países de alta prevalência de TB:  <b>85</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: ≥5, ≥10, ≥15 – conforme riscos.  <b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT®-GIT</b>	O grau de risco (exposição) correlaciona-se positivamente com a probabilidade de um IGRA e TST positivos. Recomendação para proceder a uma avaliação que permita estimar o valor prognóstico de ambos os testes.
<b>Ref. 29</b>					



<b>Adetifa et al 2010</b>	<b>Gâmbia</b>	<b>285</b>	<b>59.1</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 10\text{mm}$	A performance tanto do TST como dos IGRA foi semelhante no diagnóstico da LTBI em crianças com exposição à TB num país de elevada incidência de TB, havendo um ligeiro aumento da sensibilidade na sua associação mas com uma consequente diminuição da especificidade. Como poderá ser útil a associação dos IGRA ao TST em situações de elevado risco e suspeita clínica. Os autores consideram ainda um potencial efeito <i>boosting</i> pela aplicação do TST antes da flebotomia.
	Alta prevalência	<b>Idade:</b> 6M-14 A			
<b>Ref. 30</b>	Crianças com relatos de contacto com casos recentes de TB ativa, estratificadas consoante exposição.	<b>VIH+:</b> 1.1%		<b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT® - GIT</b>	
<b>Lucas et al 2010</b>	<b>Austrália</b>	<b>524:</b>	Africanas: 67	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: $\geq 10, \geq 15\text{mm}$ – conforme riscos.	A baixa concordância entre o TST e os IGRA poderá significar que estes possuem um melhor perfil de sensibilidade e especificidade face ao TST em populações de crianças refugiadas para o diagnóstico da LTBI. O QFT-GIT poderá ser mais adequado para a aplicação em crianças asiáticas (má resposta aos mitogénios principalmente na etnia africana e na presença de coinfeções), ao invés do T-SPOT.TB, mais adequado a crianças africanas com coinfeções, relembrando que estes métodos possuem limitações na população estudada – crianças originárias de países de alta incidência de TB.
	Alta prevalência.	441 africanas 113 asiáticas	Asiáticas: 77		
<b>Ref. 31</b>	100% crianças (VIH negativas) refugiadas da África e Birmânia.	<b>Idades médias:</b> Africanas: 7.1 A Asiáticas: 7.8 A		<b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT® - GIT</b>	
<b>Corral et al 2009</b>	<b>Colômbia</b>	<b>742 / 707</b> (ensaio não restrito a crianças)	Não especificado.	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: $\geq 5, \geq 10$ – conforme riscos.	Apenas referidos achados referentes à população pediátrica. O QFT aparenta uma maior especificidade na deteção da infeção pelo <i>M. Tuberculosis</i> (após exclusão de TBA) em crianças com contactos domésticos com doentes com TB ativa num meio com uma prevalência intermédia de TB.
	Prevalência Intermédia.			<b>QFT®</b>	
<b>Ref. 32</b>	Contactos domiciliários.	<b>Idade:</b> Não especificado.			
<b>Mendez-Echevarria et al 2011</b>	<b>Espanha</b>	<b>459</b>	<b>46.4</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> +: $\geq 5, \geq 10, \geq 15$	Os autores consideram que dado o excelente perfil de sensibilidade e especificidade o QFT-GIT, poderá proceder à diferenciação na suspeita de falsos-positivos no TST, principalmente em indurações entre os 11 e os 14mm em antecedentes de BCG ou suspeita de infeção por outras micobactérias.
	Estudo multicêntrico transversal com crianças com TB, com exposição a TB ou imigrantes de áreas endémicas.	<b>Idades:</b> 4.73 $\pm$ 3.68 A (1M-15A) <b>Imigrantes:</b> 69.3% <b>Imunodeprimidos:</b> 0%		<b>QFT®-GIT</b>	
<b>Ref. 33</b>					

<b>Connell et al 2006</b>	<b>Austrália</b>	<b>2</b>	-	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : Não especificado.	Estudo de dois casos de crianças pela suspeita de TB perinatal com raios x pulmonares suspeitos de TB miliar.
	Baixa prevalência.	<b>Idades:</b> <b>Caso 1:</b> 13 semanas, <b>Caso 2:</b> 8 dias			Os autores consideram que os métodos IGRA poderão ser mais específicos e vir a ser úteis na suspeita de TB perinatal.
<b>Ref. 34</b>	Descendentes de imigrantes				
<b>Bamford et al 2010</b>	<b>Reino Unido</b>	<b>333</b> <u>Casos coorte:</u> 195 <u>TB confirmada:</u> 49 <u>TB provável:</u> 146	<u>Casos coorte:</u> 53.3  <u>TB confirmada:</u> 63.3	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 15$ mm	
	Baixa prevalência.			<b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT®-GIT</b>	Os autores concluíram que um IGRA negativo não permite a exclusão de TB ativa mas uma associação do TST com um IGRA possibilita um aumento da sensibilidade.
<b>Ref. 35</b>	Estudo retrospectivo da sensibilidade dos IGRA vs TST em crianças com TBA (dx cultural ou clínico).	<b>Imigrantes:</b> <u>Casos coorte:</u> 41.5 <u>TB confirmada:</u> 63.3 <u>TB provável:</u> 34.2  <b>Idades:</b> 8.5 A (2M-16A)	<u>TB provável:</u> 50		Os resultados poder-se-ão dever a uma menor sensibilidade do IGRA na TB ativa sem diagnóstico cultural ou poderá ser um indicador de sobrediagnóstico.
<b>Sun lin et al 2010</b>	<b>China</b>	<b>74/51</b>	Total: 77.6 Casos: 70.4 Controlos: 88.2	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 10$ mm	Apesar da maior sensibilidade e especificidade demonstradas do T-SPOT.TB, devemos ter em conta os custos e a complexidade do método.
	Comparação em crianças com TBA e controlos.	<b>Idade:</b> Casos: 7.1 +- 4.5 A Controlos: 8.9 +- 3.0A  4 com diminuição dos CD4.		<b>T-SPOT®.TB</b>	Este poderá ter utilidade complementar aquando de suspeitas de falsos positivos ou falsos negativos no TST.
<b>Ref. 36</b>					
<b>Stavri et al 2010</b>	<b>Roménia</b>	<b>60</b>	<b>60</b>	<b>TST (PPD RT 23 e PPD IC 65)</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 10$ mm	Os resultados demonstraram uma maior sensibilidade do TST dos 1-4 anos e em vacinados com a BCG.
	Alta prevalência.	<b>Idade média:</b> 9.44 A		<b>QFT®-G</b>	Dada a baixa redundância verificada entre os testes, poder-se-á considerar que estes determinam diferentes aspetos da imunidade antimicobacteriana.
<b>Ref. 37</b>	Crianças com TBA.				Aconselha-se novas investigações de forma a avaliar se a discordância obtida é significativa de uma maior especificidade do QFT.

<b>Detjen AK et al 2007 Ref. 38</b>	<b>Alemanha</b> Baixa prevalência.	<b>73:</b> TB por dx cultural - 28	-	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 5$ mm	Os IGRA demonstraram grande valor diagnóstico na TB com dx cultural em populações com baixa incidência de TB, evidenciando um elevado valor preditivo positivo. Permitem destrição dos falsos positivos do TST causados pelas infecções por micobactérias não tuberculosas, reduzindo o sobrediagnóstico de TB. Os autores concluíram que os seus resultados vão de encontro às sugestões de várias <i>guidelines</i> , sugerindo uma aplicação dos IGRA como método confirmatório dos TST positivos.
	Crianças com TBA e infecções por micobactérias não tuberculosas.	Sem TBA - 45 <b>Idades:</b> 39 M (4M – 15,4 A) <b>Imigrantes:</b> 30%		<b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT®-GIT</b>	
<b>Haustein et al 2009 Ref. 39</b>	<b>Reino Unido</b> Baixa prevalência	<b>237</b> <b>Idades:</b> 7.3 (2.7-12.6) A <b>VIH +:</b> 3% <b>Imunodeprimidos:</b> 99 casos	<b>51</b>	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 6$ mm; $\geq 15$ mm se vacinados com BCG.  <b>QFT®-GIT</b>	Estudo retrospectivo num centro com alta prevalência de crianças imunodeprimidas (25%). A probabilidade de um resultado indeterminado do QFT-GIT poderá ser superior face a um estado de imunossupressão e idades mais jovens. Devido à dificuldade na interpretação de resultados discordantes, dever-se-á recorrer ao senso clínico.
<b>Stefan et al 2010 Ref. 40</b>	<b>Africa do Sul</b> Alta prevalência.	<b>34</b> <b>Idade:</b> 7 A (2 M -15 A) 12 tipos distintos de neoplasias malignas. <b>VIH+:</b> 0% <b>Linfopenia:</b> 67.7% <b>Tx</b> <b>imunossupressor :</b> 0%	-	<b>TST</b> <i>Cut-off</i> + : $\geq 10$ mm  <b>T-SPOT®.TB</b> <b>QFT®-GIT</b>	O maior número de resultados positivos para o T-SPOT.TB poderá sugerir uma maior sensibilidade deste teste para o diagnóstico da infeção em crianças com neoplasias malignas (diferença estatisticamente não significativa). A quantidade de resultados indeterminados apresentados pelos testes IGRA poderão refletir uma imunossupressão dos doentes, mesmo ainda antes de iniciarem a quimioterapia. Os autores concluem que dado o número inferior de resultados positivos no TST face ao esperado, este teste poderá apresentar uma menor sensibilidade no grupo específico das crianças com neoplasias malignas, considerando ainda que nenhum teste deverá ser realizado isoladamente no despiste de LTBI nesta população.

A- anos; BCG - *Bacillus Calmette-Guérin*; dx – Diagnóstico; EUA – Estados Unidos da América; ESAT-6 – *Early secreted antigenic target – 6*; G- Geração; IGRA – *Interferon-gamma release assay*; LTBI – *Latent tuberculosis infection*; M – meses; *M. tuberculosis* - *Mycobacterium tuberculosis*; PPD - *Purified protein derivative*; QFT® - QuantiFERON®-TB; QFT®-G - QuantiFERON®-TB Gold; QFT®-GIT - QuantiFERON®-TB Gold-In Tube; Ref. – Referência; TB – Tuberculose; TBA – Tuberculose ativa; TST - Teste de sensibilidade à tuberculina; tx – Tratamento; UI-unidades internacionais; VIH - Vírus da imunodeficiência humana; vs – Versus.

Quadro 3. Procedimento de administração dos testes nos artigos originais

<b>Autor Ano Ref.</b>	<b>1º TST</b>	<b>1º IGRA</b>	<b>Intervalo</b>	<b>Observações</b>
<b>Sester et al, 2010</b> Ref. 15	Não especificado.			75% dos estudos: TST – PPD RT23 e leitura entre as 48-72h.
<b>Tsiouris et al, 2006</b> Ref. 17			Mesmo dia. Desconhece-se qual o primeiro.	TST – 2 UI (PPD RT23) pelo método de Mantoux e avaliação 72h após.
<b>Okada et al, 2008</b> Ref. 18			Aparentemente no mesmo dia. Desconhece-se qual o primeiro.	TST – 2 UI de PPD pelo método de Mantoux e leitura às 72h.
<b>Winje et al, 2008</b> Ref. 19	X		Não especificado.	TST – 2 UI PPD RT23 pelo método de Mantoux e leitura às 72h.
<b>Bianchi et al, 2009</b> Ref. 20			Não especificado.	TST – Método recomendado plo SEIP e leitura às 72h.
<b>Bakir et al, 2008</b> Ref. 21			Não especificado.	TST – 2 UI de PPD RT 23 pelo método de Mantou e leitura das 72-96h.
<b>Anderson et al, 2006</b> Ref.22		X	Uma semana.	TST (Heaf test - PPD) – 10.000 unidades. Medição após uma semana.
<b>Petrucci et al, 2008</b> Ref. 23		X	Não especificado.	TST – 2 UI PPD RT23 pelo método de Mantoux e leitura entre as 48-72h.
<b>Gallant et al, 2010</b> Ref. 25			Não especificado.	TST – 2UI de PPD RT 23 pelo método de Mantoux e leitura entre 42-72h.
<b>Cruz et al, 2011</b> Ref. 26	X		Intervalo de meses, exceto, em 18 crianças (em simultâneo embora se desconheça qual o primeiro).	TST – Método de Mantoux e leitura entre as 48-72h.
<b>Bergamini et al, 2009</b> Ref. 27			Não especificado.	TST - 5 unidades de PPD pelo método de Mantoux.

<b>Kampmann et al, 2009</b> Ref. 28		Não especificado.	TST - 2 UI (PPD RT23) pelo método de Mantoux e leitura em 48-72h
<b>Connell et al, 2008</b> Ref. 29		Não especificado.	TST - 10 unidades de PPD pelo método de Mantoux e leitura após 48-72h.
<b>Adetifa et al, 2010</b> Ref. 30	<b>X</b>	TST realizado imediatamente após flebotomia	TST - 2 UI (PPD RT23) e leitura em 48-72h.
<b>Lucas et al, 2010</b> Ref. 31	Não especificado.		TST - 5 UI (PPD) pelo método de Mantoux e leitura em 48-72h.
<b>Corral H et al, 2009</b> Ref. 32		Aparentemente no mesmo dia. Desconhece-se qual o primeiro.	TST – 2UI de PPD pelo método de Mantoux e leitura às 72h.
<b>Méndez-Echevarria et al, 2011</b> Ref. 33		Não especificado.	TST – Pelas recomendações da SEIP, leitura após 72h.
<b>Connell et al, 2006</b> Ref. 34			Não especificado.
<b>Bamford et al, 2010</b> Ref. 35	<b>X</b>	Não especificado.	TST - 2 UI (PPD RT23) pelo método de Mantoux e leitura em 48-72h.
<b>Sun Li net al, 2010</b> Ref. 36	Não especificado.		TST – 0.1mL PPD pelo método de Mantoux e leitura em 72h.
<b>Stavri et al, 2010</b> Ref. 37	<b>X</b>	Não especificado.	TST – 2 UI (PPD RT23 e IC63) pelo método de Mantoux e leitura após 72h.
<b>Detjen et al, 2007</b> Ref. 38	<b>X</b>	Não especificado.	TST – 10 UI PPD, medição às 72h
<b>Haustein et al, 2009</b> Ref. 39		Não especificado.	TST - 2 UI (PPD RT23) pelo método de Mantoux e leitura em 48-72h.
<b>Stefan et al, 2010</b> Ref. 40	<b>X</b>	Não especificado.	TST - 2 UI (PPD RT23) pelo método de Mantoux e leitura em 48-72h.

IGRA – *Interferon-gamma release assay*; PPD - *Purified protein derivative* ; Ref. – Referência; TST – Teste de sensibilidade à tuberculina; UI – Unidades internacionais

Quadro 4. Comparação entre TST e IGRA (adaptado da referência 2)

Método	TST	IGRA
Visitas ao serviço de saúde	2 vezes	1 vez
Processo	<i>In vivo</i>	<i>Ex vivo</i>
	Intradérmica	Flebotomia
Tempo para obtenção de resultados	72-96h	24h
Interpretação dos resultados	Medição da induração pelo técnico - Sujeita a erros de avaliação	Informatizada
Resultados falso-positivos	BCG previamente Efeito <i>booster</i>	Não
Resultados falso-negativos	Imunodeprimidos Tuberculose grave Anergia	Possível mas pouco provável
Resultados indeterminados	Sim	Má resposta ao mitogénios ou resposta de fundo elevada.

TST – Teste de sensibilidade à tuberculina; IGRA – *Interferon-gamma release assays*; BCG – Vacina *Bacillus Calmette-Guérin*

Quadro 5. Prioridades de pesquisa em relação aos IGRA pela OMS (adaptado da referência 2)

---

**Desenvolvimento de novos ensaios e considerações biológicas**

*Performance dos testes em populações de alto risco e menos estudadas (incluindo imunodeprimidos e crianças)*

**Modelos de predição de riscos**

**Reprodutibilidade dos testes**

**Avaliação das células T durante o tratamento da tuberculose**

**Aplicações epidemiológicas**

**Operacionalização do uso dos testes em relação a diferentes sistemas de saúde e condições socioeconômicas**

---

## **ANEXOS**



## **NORMAS – REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA**

### **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

#### **Escopo e política**

- A Revista Portuguesa de Pneumologia considera para publicação trabalhos (artigos originais, de revisão, de atualização, casos clínicos, cartas ao editor, resumos críticos a livros, etc.) relacionados direta ou indiretamente com o Aparelho Respiratório.
- Os artigos publicados ficarão propriedade da Revista Portuguesa de Pneumologia, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização do editor.
- As opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos autores não se aceitando artigos publicados em outras revistas nacionais ou estrangeiras. Desde o vol. XI, nº 1, todos os artigos originais são publicados em Português e Inglês.

#### **Forma e preparação de manuscritos**

A aceitação dos originais enviados para publicação é condicionada à avaliação pelo

**Conselho Científico da Revista.** Nesta avaliação os artigos poderão ser:

- a) aceites sem alterações;
- b) aceites após as modificações propostas e aceites pelos autores;
- c) recusados.

**Apresentação dos trabalhos** – Os textos devem ser escritos em português, dactilografados,

com margens largas (25 mm), a dois espaços, numa só face do papel e em três exemplares com as páginas numeradas no canto superior direito. Solicita-se a todos os autores que enviem artigos para publicação que o façam **acompanhados do respetivo suporte magnético**, que indiquem o programa de computador em que foram executados e que tenham em atenção à reprodução das imagens (que deverá ser feita, idealmente, em suporte JPG ou TIFF) de modo a que fiquem nítidas na sua impressão tipográfica.

Chama-se a atenção que a transcrição de imagens, quadros ou gráficos de outras publicações deverá ter a prévia autorização dos respetivos editores para dar cumprimento às normas que regem os direitos de autor.

Poder-se-ão considerar para publicação artigos redigidos em inglês. Neste caso, deve incluir-se o resumo, o título e as palavras-chave, também em português. Deverão ser referenciados, pelos próprios autores, como artigos originais, de revisão, cartas ao editor, ou outros.

Todos os artigos originais serão também publicados em inglês, após retroversão para esta língua, pela(s) tradutora(s) da Revista Portuguesa de Pneumologia. Caso os autores assim o entendam, poderão enviar os artigos já traduzidos.

**Estrutura** – Sempre que possível será adotado o esquema convencional em que se iniciará cada parte do trabalho numa nova página pela seguinte ordem:

a) Na primeira página:

- título do trabalho em português e inglês

b) Na segunda página:

- o nome dos autores com os respetivos títulos académicos e/ou profissionais;

- os serviços onde foi realizado, nome dos seus diretores e os respectivos endereços.

c) Na(s) página(s) seguinte(s):

- o resumo em português que não deverá ultrapassar 250 palavras para os trabalhos originais e de 150 para os casos clínicos;

- o resumo em inglês com características idênticas ao do inicial em português;

- as palavras-chave, em português e inglês (3 a 10), que servirão de base à indexação do artigo, de acordo com a terminologia do Index Medicus “Medical Subject Headings”.

d) O texto que, no caso dos artigos originais, terá em geral: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões

e) O texto, também em inglês, tratando-se de um artigo original, e caso o(s) autor(es) assim o entendam fazer

f) Agradecimentos

g) Bibliografia

h) Quadros e Figuras.

**Bibliografia** – As referências bibliográficas devem ser numeradas por ordem consecutiva da sua primeira citação no texto. Devem ser identificadas no texto com números árabes. As referências devem conter, no caso das revistas, o nome do primeiro autor (apelido e nome), seguido dos restantes, do título do artigo, do nome da publicação e da sua identificação (ano, volume e páginas).

**Quadros e figuras** – Os quadros e figuras devem ser apresentados em páginas separadas, em condições de reprodução. Devem ser acompanhados da respetiva legenda em página à parte, mencionando no verso a lápis o número de ordem. Todos os gráficos deverão ser apresentados através de fotografia do respetivo original.

**Modificações e revisões** – No caso da aceitação do artigo ser condicionada a modificações, estas devem ser realizadas pelos autores no prazo máximo de vinte dias.

As **provas tipográficas** serão da responsabilidade da Redação, se os autores não indicarem o contrário. Neste caso elas deverão ser feitas no prazo determinado pela Redação, em função das necessidades editoriais da Revista.

**Separatas** – Podem ser fornecidas vinte e cinco separatas. Um número superior de separatas poderá ser disponibilizado, a expensas dos autores, quando requisitadas antes da impressão.

**Cartas ao editor** – Devem constituir um comentário crítico a um artigo da Revista ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 500 palavras, nem conter mais de um quadro ou figura e um máximo de 6 referências bibliográficas. As respostas do(s) autor(es) devem obedecer às mesmas características.

**Pedido de publicação** – Os trabalhos deverão ser enviados à Redação, em nome do editor, para o Serviço de Pneumologia – piso 8 – Hospital de Santa Maria, Av. Prof. Egas Moniz – 1600 Lisboa, Portugal, ou para a sede da SPP, Rua Rodrigues Sampaio, 112 – 2º Dtº B, 1150-281 Lisboa, Portugal, acompanhados de uma carta com pedido de publicação, subscrito por todos os autores, indicação da cedência do copyright e que não foram publicados ou enviados para publicação em outra revista nacional ou estrangeira. Não serão aceites trabalhos já publicados ou enviados simultaneamente a outras revistas.

Os trabalhos também poderão ser enviados por via eletrónica (e-mail: [sppneumologia@mail.telepac.pt](mailto:sppneumologia@mail.telepac.pt)).

**Nota final** – Para um mais completo esclarecimento sobre este assunto aconselha-se a leitura dos requisitos do International Committee of Medical Journal Editors, publicados na íntegra no N Engl J Med 1991; 324:424-428.